

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LARA LIMA PARALOVO

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE BEBIDA
FERMENTADA DE MALTE TIPO CERVEJA PRODUZIDA SEM LÚPULO E COM
ADIÇÃO DE CACAU**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO, 2019

LARA LIMA PARALOVO

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE BEBIDA
FERMENTADA DE MALTE TIPO CERVEJA PRODUZIDA SEM LÚPULO E COM
ADIÇÃO DE CACAU**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado ao 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 a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo.

CAMPO MOURÃO, Junho 2019



TERMO DE APROVAÇÃO

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE BEBIDA FERMENTADA DE MALTE TIPO CERVEJA PRODUZIDA SEM LÚPULO E COM ADIÇÃO DE CACAU

por

LARA LIMA PARALOVO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado no dia 25 de junho de 2019 como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente
Plata Oviedo

Prof. Dr. Miguel Angel Aparício
Rodriguez

Prof. Dr. Jose Hilton Bernardino de
Araujo

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

Agradeço inicialmente aos meus pais, José Luiz Paralovo e Maria Aparecida Lima Paralovo por todo o apoio, compreensão e incentivo e principalmente pelo amor e carinho que sempre me trataram e por tudo o que me ensinaram ao longo de toda a minha caminhada, contribuindo imensamente para o que eu sou hoje.

A minha irmã, Sarah Lima Paralovo por ser minha melhor amiga, por me apoiar em todas as minhas escolhas e me ajudar a sempre escolher o melhor caminho e ver as coisas com mais clareza.

Ao meu namorado Pedro Henrique M. de Medeiros por ser meu porto seguro, me segurando quando me faltam forças e estando sempre ao meu lado, dos melhores aos piores momentos, sempre sendo um motivo pra me fazer sorrir.

Aos meus amigos e irmãos de pesquisa, Ricardo Macedo, Ana Paula Sousa e Kelly Paulino por toda a ajuda e companheirismo nessa reta final do curso.

Ao meu orientador e amigo Manuel S. V. P. Oviedo, por todo o ensinamento e ajuda com a pesquisa.

A todos os professores que me fizeram crescer e amadurecer ao longo dessa jornada, moldando o que sou hoje.

A todos os meus amigos da UTFPR e de Campo Mourão por terem feito essa caminhada ser mais agradável, e também aos meus amigos de Volta Redonda e Pinheiral que apesar da distancia sempre se fizeram presentes.

Aos membros da banca Miguel A. A. Rodriguez, Stephani C. Beneti e José Hilton B. de Araújo, por todas as dicas e conselhos que com certeza tornaram este trabalho mais rico.

A todos os funcionários da UTFPR que direta ou indiretamente foram cruciais para que minha caminhada fosse de sucesso me permitindo chegar até aqui.

A todos, os meus mais sinceros agradecimentos.

RESUMO

PARALOVO, L. L. **Determinação de parâmetros físico-químicos de bebida fermentada de malte tipo cerveja produzida sem lúpulo e com adição de cacau.** 2019. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso – Departamento Acadêmico de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2019.

O uso de novas fontes vegetais como substituinte do lúpulo na produção de cerveja além de reduzir o custo de produção da mesma, abre possibilidades para inovar o mercado cervejeiro, tornando possível elaborar uma bebida com sabores e aromas diferenciados. O objetivo deste trabalho foi produzir uma bebida fermentada de malte tipo cerveja, sem adição de lúpulo, utilizando o pau-tenente (*Quassia amara L.*) como agente de amargor e comparar os parâmetros físico-químicos da adição de diferentes concentrações de nibs de cacau na etapa de maturação, e ainda comparar os resultados das análises com cervejas dos estilos Porter e Stout encontradas no mercado. Foram analisadas seis amostras, contendo 0, 1, 2, 3, 4 e 5 gramas de cacau por litro de cerveja, todas produzidas com 0,25 g.L⁻¹ de pau-tenente. Todas as amostras foram analisadas quanto ao teor de proteínas (mg.L⁻¹) e compostos fenólicos (mg EAG.L⁻¹), absorvância a 600 nm, pH, teor alcoólico (% v/v) e cor (°EBC). As formulações de 0 a 5 g.L⁻¹ de cacau apresentaram valores de proteínas entre 640,27 e 668,70 mg.L⁻¹, compostos fenólicos entre 1586, 86 e 1639,69 mg EAG.L⁻¹, absorvância entre 1,291 e 1,451, pH entre 3,67 e 3,72, cor entre 60,77 e 65,95 °EBC e teor alcoólico entre 5,615 e 5,791, sendo todas classificadas como cerveja com alto teor alcoólico. Ao comparar a bebida elaborada com as adquiridas no mercado concluiu-se que a mesma se aproxima quanto a cor e teor alcoólico as cervejas dos estilos (Porter e Stout).

Palavras-chave: Cerveja artesanal, cerveja sem lúpulo, *Quassia amara L.*, nibs de cacau

ABSTRACT

PARALOVO, L. L. **Determination of physical-chemical parameters of beer-like fermented beverage without hops and with addition of cocoa nibs**. 2019. 51p. Course Conclusion Work - Academic Department of Food, Federal Technological University of Paraná. Campo Mourão, 2019.

Using new vegetable sources as a substitute for hops in beer production, in addition to reducing its cost of production opens up possibilities to innovate the brewing market, making it possible to elaborate a drink with different flavors and aromas. This study aimed to produce a beer-like fermented beverage without addition of hops, using *Quassia amara L.* as bitterness agent and compare the physical and chemical parameters of the addition of varied concentrations of cocoa nibs in maturation step, and even compare the test results with beers Stout and Porter styles found on the market. Six samples were analyzed, containing 0, 1, 2, 3, 4 and 5 grams of cocoa per liter of beer, all produced with 0.25 g.L⁻¹ of *Quassia amara L.* All samples were analyzed as the phenolic (mg EAG.L⁻¹) and protein content (mg.L⁻¹), the 600 nm absorbance, pH, alcohol content (%v/v) and color (°EBC). The formulations of 0 to 5 g.L⁻¹ of cocoa nibs resulted in protein values between 640.27 and 668.70 mg.L⁻¹, phenolic compounds between 1586, 86 e 1639,69 mg EAG.L⁻¹, absorbance between 1.291 and 1.451, pH between 3.67 and 3.72, color between 60.77 and 65.95 °EBC and alcohol content between 5.615 and 5.791, all classified as beer with high alcohol content. When comparing the beverage prepared with those acquired in the market it was concluded that the same approaches as the color and alcoholic content of beer styles Porter and Stout.

Key Words: Craft beer; beer without hops, *Quassia amara L.*, cocoa nibs

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da quassina e neoquassina.....	18
Figura 2 - Variedades de cacau - 2A: Cacau Forasteiro; 2B: Cacau Criollo; 2C: Cacau Trinitário	19
Figura 3 - Processo de fabricação de cerveja artesanal	21
Figura 4 - Comparação das cores das amostras com as cervejas estilos Porter e Stout adquiridas no mercado	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das análises de proteínas (mg.L^{-1}) ao longo da maturação	34
Tabela 2 - Resultados das análises de compostos fenólicos (mg equivalente de ácido gálico. L^{-1}) ao longo da maturação	35
Tabela 3 - Resultados das análises de absorvância (600 nm) ao longo da maturação.....	37
Tabela 4 - Resultados das análises de teor alcoólico (% v/v) ao fim da maturação.....	38
Tabela 5 - Resultados das análises de pH ao longo da maturação	39
Tabela 6 - Resultados das análises de cor e turbidez das amostras ao fim da maturação...	40
Tabela 7 - Resultados das análises das amostras ao fim da maturação comparando com cervejas Porter e Stout adquiridas no mercado	41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3. JUSTIFICATIVA	14
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4.1 Cerveja	15
4.2 Insumos	15
4.2.1 Água.....	15
4.2.2 Malte.....	16
4.2.3 Levedura.....	17
4.2.4 <i>Quassia amara L.</i>	18
4.2.5 Cacau.....	19
4.3 Estilo Porter	20
4.4 Estilo Stout	20
4.5 Produção de Cerveja Artesanal	21
4.5.1 Moagem do malte.....	22
4.5.2 Mosturação.....	22
4.5.3 Filtração.....	23
4.5.4 Fervura.....	23
4.5.5 Decantação e Resfriamento.....	24
4.5.6 Fermentação.....	24
4.5.7 Maturação.....	25
4.6 Propriedades medicinais e possível toxicologia de <i>Quassia amara L.</i>	25
5. MATERIAIS E MÉTODOS	27
5.1 Materiais	27
5.2 Métodos	27
5.2.1 Testes preliminares.....	27
5.2.2 Determinação dos agentes de amargor, sabor e aroma.....	28
5.2.3 Mosturação.....	28
5.2.4 Filtração e lavagem do mosto.....	29
5.2.5 Fervura e Turbilhonamento/Decantação.....	29

5.2.6	Resfriamento	29
5.2.7	Fermentação e maturação	30
5.2.8	Análise de pH.....	31
5.2.9	Análise de proteínas.....	31
5.2.10	Análise de compostos fenólicos	31
5.2.11	Análise de teor alcoólico	31
5.2.12	Análise de cor e turbidez.....	32
5.2.13	Análise estatística.....	33
6.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
6.1	Proteínas	33
6.2	Compostos Fenólicos	35
6.3	Absorbância	36
6.4	Teor Alcoólico	37
6.5	pH.....	38
6.6	Cor e turbidez	40
6.7	Comparação com cervejas comerciais	41
6.8	Observações sobre Características Organolépticas das Cervejas	43
7.	CONCLUSÃO	44
8.	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

A cerveja é tradicionalmente uma bebida consumida em todo o mundo, de baixo teor calórico e sem gorduras, possui ácidos orgânicos, vitaminas (provenientes do malte), proteínas e água. Tem um valor nutricional superior, quando comparada a outras bebidas alcoólicas, devido seus minerais, tais como potássio, magnésio, cálcio e sódio. A ocorrência natural de compostos antioxidantes, como compostos fenólicos, deve-se em grande parte a utilização de cereais e malte em sua produção (WEI et al., 2001).

Não há registros que informem o momento exato da elaboração da primeira cerveja, entretanto, sabe-se que seu surgimento deu-se simultaneamente ao domínio do cultivo de cereais pelos povos antigos (BOTELHO, 2009). Há registros das civilizações Suméria e Assíria de 10.000 anos atrás produzindo bebidas fermentadas a partir do pão. Naquela época a nutritiva mistura era considerada sagrada e oferecida aos deuses (CRUZ, 2008). É importante ressaltar que, nessa época, o lúpulo não era um ingrediente essencial da cerveja, que era produzida de diversas formas, sendo adicionadas dos mais diversos ingredientes, fazendo com que a bebida ganhasse a personalidade da região, que variava de acordo com as matérias primas disponíveis. Dentre as receitas variadas, um dos fatores em comum era a utilização do Gruit, que era uma mistura de temperos e ervas que conferia mais sabor à bebida (GARBIN, 2017). Durante a Idade Média, os germânicos foram os primeiros a utilizar o lúpulo na cerveja, conferindo as características básicas da bebida atual (MEGA, 2011).

O lúpulo é uma planta dióica da família das *Cannabaceae* que é acrescida à produção da cerveja, conferindo amargor, sabor e aroma à bebida, além de ter ação antisséptica, pois contém ácidos bacteriostáticos (AQUARONE, 2001). De acordo com Hornsey (1999) a espécie comumente utilizada nas cervejarias é o *Humulus lupulus*. Seu cultivo é realizado em regiões de baixas temperaturas no hemisfério norte. Os principais produtores são os Estados Unidos e países do norte da Europa. Devido ao clima tropical do Brasil não há condições de plantio de lúpulo em nosso território e toda a demanda para produção deve ser importada. (HUGHES e BAXTER, 2001). Isso faz com que o lúpulo seja o insumo de maior custo unitário na

produção de cerveja no Brasil, tornando assim, sua produção inviável para muitos cervejeiros caseiros.

O uso de novas fontes vegetais como fontes de amargor em substituição do lúpulo tem como pontos positivos a oferta de uma nova bebida fermentada de malte tipo cerveja e um custo de produção menor ao da cerveja tradicional, mais acessível aos cervejeiros caseiros do Brasil. Para tal, será utilizada a casca da árvore *Quassia amara L.*, encontrada naturalmente no território brasileiro.

Quassia amara L. é uma árvore conhecida popularmente como pau-tenente ou pau-amargo, pertencente à família *Simaroubaceae*. Ocorre no Brasil nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Sul. Análises físico-químicas de *Quassia amara* revelaram a existência de numerosos compostos, incluindo alcaloides indólicos e cantinônicos, triterpenos, esteroides e os princípios amargos quassinóides (quassina e neoquassina) (TOMA, 2001).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Produção de bebida fermentada de malte tipo cerveja sem adição de lúpulo, utilizando o pau-tenente (*Quassia amara L.*) como agente de amargor e comparação dos parâmetros físico-químicos resultantes da adição de diferentes concentrações de nibs de cacau na etapa de maturação.

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver uma formulação para produção de bebida fermentada de malte tipo cerveja sem adição de lúpulo;
- Determinar parâmetros físico-químicos da bebida;
- Comparar os resultados das análises físico-químicas com cervejas dos estilos Porter e Stout encontradas no mercado.

3. JUSTIFICATIVA

O lúpulo é utilizado como fonte de amargor, sabor e aroma em cervejas produzidas em todo o mundo, porém seu cultivo é realizado apenas em regiões de clima frio, fazendo com que toda a demanda do mesmo para a produção de cerveja no Brasil seja importada, aumentando significativamente seu custo. Entretanto, o Brasil possui uma rica biodiversidade em todo o seu território, que pode ser explorada de diversas formas dentro do mercado cervejeiro. Combinando o amargor da *Quassia amara L.* com o sabor e aroma do cacau obtém-se uma bebida com características sensoriais semelhantes à cerveja sem a necessidade de recorrer a produtos importados, tornando sua produção muito mais viável no Brasil, além de chegar a uma bebida com uma identidade mais brasileira.

Olhando pelo ponto de vista econômico, a utilização de *Quassia amara L.* como fonte de amargor para a cerveja é muito vantajosa, tendo em vista que seu valor unitário é muito inferior ao do lúpulo. Para efeito de comparação, foi feita uma pesquisa dos valores de *Quassia amara L.* em sites especializados na comercialização de produtos naturais, e também dos lúpulos comumente utilizados na produção de cervejas dos estilos Porter ou Stout, como os lúpulos Saaz, Golding, Galena, Cascade e Northern Brewer. Os valores encontrados para 1Kg de *Quassia amara L.* variam de R\$39,92 (site Beleza da terra) a R\$44,08 (site Mundo Cerealista), o valor pago por 300 g na loja Armazém Natural, situada na cidade de Campo Mourão-PR para a realização do projeto, foi de R\$11,50, que equivale a R\$38,33 por Kg, valor semelhante aos encontrados nas lojas online.

Os valores dos lúpulos foram consultados na Lamas Brew Shop, site especializado na comercialização de insumos cervejeiros, onde todos os outros insumos utilizados no projeto foram adquiridos. O lúpulo é vendido em pacotes de 10 g, e os valores variam de R\$1,94 (Cascade) a R\$3,66 (East Kent Goldings), que equivalem de R\$194 a R\$366 por Kg, respectivamente.

A diferença entre os valores se mostra mais evidente quando se compara as quantidades utilizadas, pois para a produção de 27 L de bebida fermentada tipo cerveja, foram utilizados 7,5g de *Quassia amara*, enquanto as receitas de cervejas Porter e Stout recomendam a utilização de 30 a 40 g de lúpulos de amargor para a produção de 30L de cerveja.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Cerveja

A legislação brasileira define cerveja como bebida carbonatada obtida através da fermentação alcoólica do mosto oriundo de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. Durante a fabricação parte do malte de cevada poderá ser substituído por adjuntos cervejeiros que são cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal, que substituem parcialmente o malte, cujo emprego não poderá ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 1997).

A produção de cerveja no Brasil apresenta uma tendência crescente nos últimos 30 anos, e recentemente alcançou o patamar de 140 milhões de hectolitros (mi hl) colocando o Brasil em terceiro lugar no ranking mundial, atrás apenas da líder China (460 mi hl) e dos EUA (221 mi hl) e a frente da Alemanha (95 mi hl) e da Rússia (78 mi hl) (MARCUSO e MULLER, 2017).

Diante desse cenário otimista, do ponto de vista do potencial de crescimento das cervejarias, em países de baixo consumo per capita como China e Brasil, as cervejarias artesanais ainda continuam sua longa jornada rumo à obtenção de fatias mais significativas no mercado nacional (SEBRAE, 2014).

4.2 Insumos

4.2.1 Água

A água deve ser insípida, inodora e ter pH ideal entre 6,5 e 8 – para atingir o pH ideal para as enzimas do malte, quando acontecer a mistura entre malte e água (MATOS, 2011).

Em quantidade, a água é o principal componente da cerveja e suas propriedades são alguns dos fatores mais significativos na qualidade final do produto. A atual disposição tecnológica favorece a possibilidade do uso de água com

teor de pureza e sais minerais adequados para produção de cerveja (MEGA et al., 2011).

A água dura, rica em sais minerais, é excelente para a cerveja amarga; a água leve, encontrada em regiões montanhosas, é ideal para cervejas mais leves. Muitas cervejarias estabelecem-se em locais onde possam explorar a água natural da região (SANTOS et al., 2013). Atualmente, as cervejarias tratam a água por osmose reversa para depois acrescentar sais minerais de acordo com o estilo de cerveja a ser fabricado (EUWA, 2006).

4.2.2 Malte

Cultivados em climas temperados, os grãos de cevada, após a colheita, são colocados para germinar, visando à indução das enzimas α -amilase e β -amilase que transformarão o amido em açúcares fermentescíveis. O grão, germinado e seco em condições controladas chama-se malte (SANTOS et al., 2013).

Na germinação da cevada para obtenção do malte, enzimas, como as α e β -amilases são produzidas pelo próprio metabolismo da semente para que o amido do endosperma seja hidrolisado parcialmente em açúcares fermentescíveis (maltose, glicose, maltotriose) que serão usadas de energia para o embrião se desenvolver e originar uma nova planta (MATOS, 2011 apud. CARVALHO, 2017). Para preservar a atividade enzimática o malte verde é seco a baixas temperaturas (50 a 60°C) até atingir 23% de umidade. Após esta etapa são efetuados ligeiros aumentos da temperatura até atingir 6% de umidade. Por último o malte é tostado a temperaturas de 70 a 80°C para obtenção de maltes claros de elevada atividade enzimática como o malte pilsen usado na maioria das cervejas como malte base, precursor dos açúcares fermentescíveis (PORTO, 2006). Quando tostado a elevadas temperaturas (100 a 300°C) a finalidade é a fabricação de maltes escuros, sem atividade diastática, usados em pequenas quantidades (1 a 5%) para conferir cor, aroma e sabor a cerveja (SACH, 2001).

4.2.3 Levedura

As leveduras mais utilizadas no processo cervejeiro são *Saccharomyces cerevisiae*, para produção de cervejas do tipo Ale, de alta fermentação, e *Saccharomyces uvarum*, utilizada na fabricação de cervejas do tipo Lager, de baixa fermentação. Este micro-organismo é utilizado graças a sua capacidade de converter uma grande variedade de açúcares em álcool (STEWART e RUSSEL, 1998).

O processo de alta fermentação normalmente ocorre a uma temperatura entre 15 e 22°C, e fermentam na parte superior do mosto. Normalmente fermentam todo o açúcar em um período de 3 a 5 dias. Já o processo de baixa fermentação ocorre a uma temperatura de 6 a 15°C, fermentam no fundo do mosto e normalmente demorar cerca de 10 dias (MATOS, 2011; EVANGELISTA, 2012).

A etapa de fermentação seja do tipo Ale ou Lager passa por uma etapa aeróbia seguida por uma etapa anaeróbia. Somente na segunda etapa ocorre à formação de etanol, o principal produto de excreção produzido pela levedura durante a fermentação. Para que esta etapa ocorra de uma maneira rápida e eficiente existe a necessidade de uma quantidade suficiente de leveduras, e o oxigênio influencia decisivamente para o crescimento e multiplicação das mesmas. O oxigênio é inserido no início do processo de fermentação através da aeração do mosto (STEWART e RUSSEL, 1998).

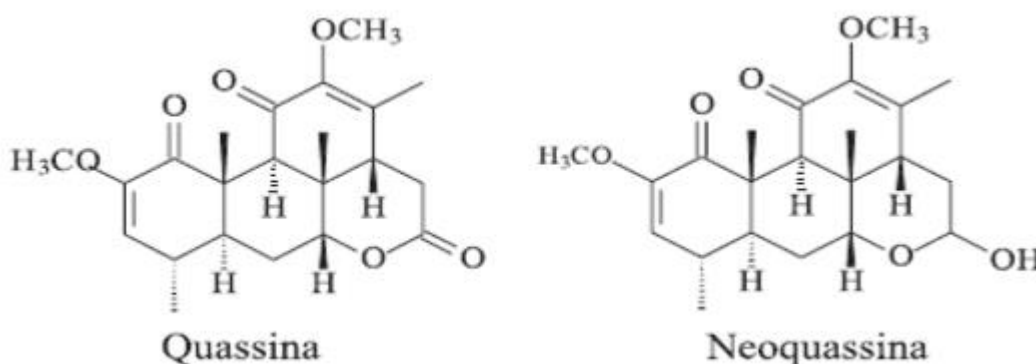
O álcool possui forte impacto sobre o aroma da cerveja juntamente com outros compostos excretados pelas leveduras no processo fermentativo. Fatores como a cepa da levedura utilizada, a temperatura de fermentação, o tipo e a quantidade de adjunto adicionado, o pH do mosto e os compostos voláteis formados na fermentação contribuem expressivamente para o aroma da bebida (STEWART e RUSSEL, 1998). Entre os compostos voláteis destacamos ácidos orgânicos, álcoois superiores, ésteres, carbonilas, compostos sulfúricos, aminas e fenóis (HUGHES e BAXTER, 2001).

4.2.4 *Quassia amara* L.

A *Quassia amara* L. é uma planta nativa do norte do Brasil, considerada um arbusto grande ou árvoreta, podendo medir até 5 metros de altura, e com inflorescências terminais vermelho-vivo. Pertencente à família das Simaroubaceae que é constituída de aproximadamente 32 gêneros e 200 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. Esta família é caracterizada pela bioprodução de princípios amargos, assim, muitas espécies dessa família (*Quassia amara*, Jamaica quassia, *Simarouba versicolor*), são conhecidas por conterem substâncias amargas, denominadas quassininas, uma das classes dos compostos quassinóides (ALMEIDA et al., 2007).

Os quassinóides são triterpenos biodegradados com alto padrão de oxigenação e são encontrados quase exclusivamente nas plantas que constituem a família Simaroubaceae, sendo assim, considerado um marcador taxonômico da mesma (NUNOMURA et al., 2012). Segundo Almeida (2007), os primeiros quassinóides isolados, em 1835 foram encontrados na madeira da espécie *Quassia amara*, a quassina e a neoquassina (Figura 1).

Figura 1 - Estrutura da quassina e neoquassina



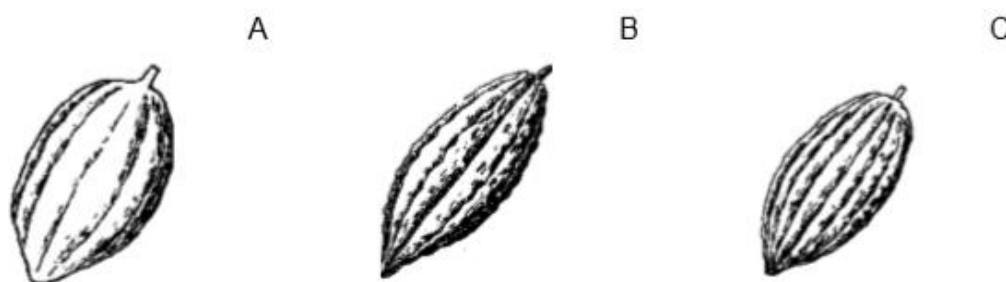
Fonte: ALMEIDA (2007)

Devido sua ampla faixa biológica, os quassinóides vêm despertando grande interesse da comunidade científica. Atividades como antitumoral, antimalárica, fitotóxica, fago-inibidora, inseticida, antiparasitária, antiúlcera e anti-inflamatória são citadas em revisão por Almeida (2007).

4.2.5 Cacau

O termo cacau refere-se tanto ao fruto quanto a semente da planta da espécie *Theobroma cacao* L, pertence à família *Sterculiaceae* (WOOD e LASS, 1985). Originária da América do Sul, a oeste dos Andes, o cacauero é uma árvore tropical e de clima úmido. Existem basicamente três variedades de cacau: 'Forasteiro' (Figura 2A), 'Criollo' (Figura 2B) e 'Trinitário' (Figura 2C) (ICCO, 2007).

Figura 2 - Variedades de cacau - 2A: Cacau Forasteiro; 2B: Cacau Criollo; 2C: Cacau Trinitário



Fonte: UQ (2017)

Os principais componentes nutricionais das amêndoas de cacau são a gordura, carboidratos e proteínas, mas além destes, contém também uma gama de compostos bioativos como várias enzimas, vitaminas, esteróis, fosfolipídios, fibras dietéticas, minerais (K, Mg, Cu, Fe, P), metilxantinas (cafeína e teobromina) e compostos fenólicos (MACHADO, 2017).

Os compostos fenólicos do cacau dividem-se em muitas classes de moléculas, como as catequinas, epicatequinas, antocianinas, pró-antocianidinas, ácidos fenólicos, taninos condensados e outros flavonoides (ARLORIO, 2005).

O cacau é a principal fonte natural de teobromina, mas em relação à cafeína quando comparado ao café, chá, produtos de cacau e chocolate, têm um conteúdo muito menor e apenas vestígios de teofilina (TOCOROVIC, 2015). Estes compostos foram associados com alguns efeitos fisiológicos em vários sistemas corporais, incluindo os sistemas nervoso central, gastrointestinal, respiratório e renal (LI, 2012).

4.3 Estilo Porter

As cervejas do estilo Porter são cervejas escuras com um complexo e saboroso caráter de malte escuro, com aroma médio-leve a médio-forte de malte escuro, frequentemente com um caráter levemente queimado. Opcionalmente também pode mostrar algum caráter adicional de maltes adicionais de suporte (granulado, de pão, caramelado, chocolate, café, rico, e/ou doce). Apresentam cor marrom médio a marrom muito escuro, muitas das vezes com reflexos de matizes rubi assim como granada. Pode se aproximar de cor preta. A limpidez e transparência podem ser difíceis de discernir em uma cerveja escura, mas quando não se apresenta opaca será límpida (particularmente quando colocada na direção da fonte de luz). Espuma volumosa, de cor bege amarelada a castanho dourado, com moderada a boa retenção. Possui, moderadamente, forte sabor de malte que geralmente apresenta um leve caráter de malte queimado (e, por vezes, sabores de chocolate e/ou café) com um pouco de grãos, maltes escuros secos no final. O sabor, no geral, pode ter um acabamento de seco a médio-doce. Pode ter um caráter acentuado dos grãos tostados escuros, mas não deve ser excessivamente acre, queimado ou áspero. De médio a elevado amargor, que pode ser acentuada pelo malte escuro. Corpo médio a médio-alto. Moderadamente baixa a moderadamente alta carbonatação. Versões mais fortes podem ter um ligeiro calor alcoólico. Pode apresentar uma leve adstringência dos maltes escuros, embora este caráter não deva ser forte (BONACCORSI, 2016).

4.4 Estilo Stout

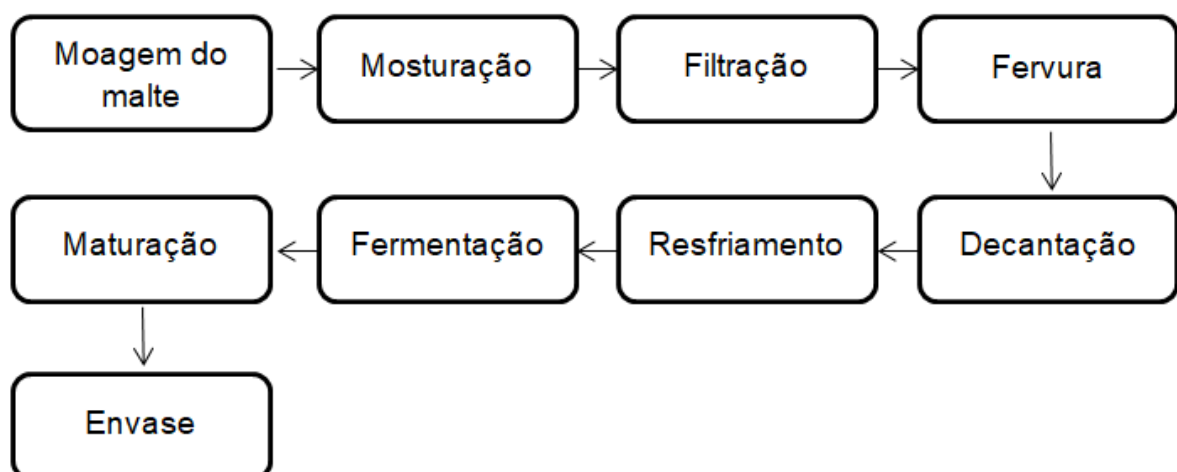
As cervejas do estilo Stout são escuras, bastante fortes, altamente tostadas, amargas e lupuladas. Tem o corpo e sabores escuros típicos, apresenta moderado a forte aroma de malte tostado, muitas vezes tendo um café torrado ou qualidade chocolate escuro. Aromas queimados ou de carvão são aceitáveis em níveis baixos. Aromas de lúpulo de médio a muito baixo, muitas vezes com um caráter cítrico ou resinoso. Ésteres médios a ausentes. Leves aromáticos derivados do álcool são também opcionais. Apresenta geralmente uma cor preta brilhante, embora alguns possam se apresentar em tom castanho muito escuro. Espuma grande, volumosa e persistente de cor bronzeada a castanho claro. Geralmente opaca. Apresenta

moderado a muito altos sabores de malte tostado, muitas vezes de degustação de café, grãos de café torrados, chocolate escuro ou amargo. Pode ter o sabor de borras de café ligeiramente queimadas, mas esse caráter não deve ser destacado. Baixo a médio dulçor maltado, na maioria das vezes com sabores de chocolate ou de caramelo. Amargor de médio a elevado. Sabor de lúpulo baixo a alto, geralmente cítrico ou resinoso. Ésteres baixos a nenhum. Final médio a seco, ocasionalmente, com uma qualidade levemente queimada. Sabores de álcool podem se apresentar até níveis médios, mas redondos. Possui corpo médio a elevado. Pode ser um pouco cremosa, particularmente se uma pequena quantidade de aveia é utilizada para melhorar a sensação na boca. Pode ter um pouco de adstringência derivada do tostado, mas esse caráter não deve ser excessivo. Carbonatação médio-alta a alta. Calor alcoólico leve a moderado, mas suave e não excessivamente quente (BONACCORSI, 2016).

4.5 Produção de Cerveja Artesanal

A Figura 3 mostra o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Figura 3 - Processo de fabricação de cerveja artesanal



4.5.1 Moagem do malte

Para iniciar o processo de produção, primeiramente tem-se que realizar a moagem do malte. Os objetivos desta moagem são: aumentar a área superficial do grão, possibilitando a atuação enzimática e quebra do malte, separação das cascas para serem utilizadas como material filtrante, ter um rendimento máximo, uma boa clarificação e uma boa qualidade do mosto filtrado (BRIGGS et al.,2004).

Para não danificar a casca, algumas grandes indústrias fazem a moagem do malte umidificando-o primeiro, ou mesmo com o malte já em solução aquosa (MATOS, 2011). A importância da casca do malte ser apenas rasgada no processo de moagem está relacionada com a velocidade da filtração após a mosturação, pois ela, quando inteira, forma um meio de filtração mais poroso (SCHORK, 2015 apud. EVANGELISTA, 2012).

4.5.2 Mosturação

Mostura ou brassagem são os termos usados pelos cervejeiros para o processo de embeber em água quente o malte, que ao se hidratar, ativa as enzimas, que converterão o amido dos grãos em açúcares. As enzimas contidas no grão de cevada maltada, por influência da temperatura, dão início à hidrólise do amido, transformando amido em maltose e outros açúcares, além de extrair outras substâncias como proteínas, vitaminas, taninos, etc (MATOS, 2011).

Diferentes faixas de temperatura favorecem o trabalho de diferentes enzimas, que agirão de diversas maneiras em diferentes partes das moléculas de amido, quebrando-as em tamanhos diversos, gerando açúcares específicos (PALMER, 1999). Geralmente, altas temperaturas na mistura (67 a 72°C) produzem açúcares mais complexos, chamados "dextrinas", que não são fermentados pelas leveduras, resultando em cervejas mais doces e encorpadas. Temperaturas mais baixas na mistura (62 a 66°C) produzem açúcares básicos, como a maltose, que é fermentada completamente pelas leveduras, o resultado são cervejas "secas" (sem doçura). O tempo típico dessa etapa é de 90 minutos (em pequenas cervejarias). (MATOS, 2011 apud. ERTHAL, 2006). No processo de mosturação, obtém-se a extração de 65% dos sólidos totais do malte (CARVALHO, 2007).

4.5.3 Filtração

A filtração consiste em clarificar o mosto, já pronto, separando-o da parte sólida insolúvel. A casca do malte funciona como o filtro e o mosto é recirculado sobre ela até estar clarificado, em seguida, o resíduo sólido é lavado com água quente a fim de se recuperar os açúcares retidos na torta do filtro (AQUARONE 2001).

Existem vários meios para realizar esta separação, pode ser pela tina combinada de mosturação-filtração, filtro prensa, “strain máster” e a tina de filtração. A mais utilizada atualmente é a tina de filtração, que consiste em um tanque com uma peneira em seu interior (RONCONI, 2016 apud. BOULTON et al., 2001).

A filtração é extremamente importante para a qualidade da cerveja, visto que os sólidos contêm grande quantidade de proteínas e enzimas coaguladas, resquícios de amido não modificado, material graxo, silicatos e polifenóis. Essas substâncias podem prejudicar sabores, odores, viscosidade e visual da cerveja (MATOS, 2011).

4.5.4 Fervura

Após a filtração do mosto, ele é submetido à fervura, que tem como finalidades a isomerização dos lúpulos, garantir o desenvolvimento de substâncias aromáticas, desenvolvimento coloidal, inativação completa das enzimas presentes e a esterilização do mosto. A inativação das enzimas é necessária, caso contrário, a cerveja irá apresentar sabor adstringente. Além disso, durante a fervura do mosto, proteínas e complexos de proteínas como os taninos, precisam ser eliminados para obter uma cerveja clarificada. Com o aumento da fervura as proteínas coagulam e precipitam no fundo da tina de fervura. Esse precipitado é denominado “trub”. Na maioria das vezes, há uma ineficiência na coagulação das proteínas, levando uma cerveja sem estabilidade coloidal. Uma maneira de remover essas proteínas é a adição de agentes clarificantes para garantir sua estabilidade (ESSLINGER, 2009).

Esse processo dura de 60 a 90 minutos. Há cervejarias em que se faz a fervura sob pressão, deixando a temperatura do mosto mais alta, e o tempo de ebulição necessário se torna menor. Esse processo, por outro lado, não pode ser

muito longo, pois a reação de escurecimento não enzimático (Reação de Maillard), que intensifica a cor do mosto, pode ter efeito negativo, de modo a se perderem características de cor e sabor que eram desejáveis. (REITENBACH, 2010).

4.5.5 Decantação e Resfriamento

Após finalizar a fervura, necessita-se separar o “trub” do mosto. Esta separação é feita em uma tina de decantação, denominada “whirlpool”, por onde o mosto entra tangencialmente a tina, formando um movimento curvilíneo e a força centrípeta provocada, concentra todo o “trub” no centro da tina facilitando a remoção do mosto (RONCONI, 2016 apud. AQUARONE et al., 2001).

O mosto, agora clarificado, deve ser resfriado até temperaturas seguras para a sobrevivência das leveduras (máximo 27°C). É ideal que já se resfrie o mosto até a temperatura de fermentação, que vai depender da levedura utilizada. Em geral, temperaturas mais amenas (12°C) para leveduras de baixa fermentação, e temperaturas mais altas para leveduras de alta fermentação (20°C) (MATOS, 2011).

Segundo Aquarone et al. (2001) O mecanismo de resfriamento mais utilizado nas cervejarias são trocadores de calor a placas, pois apresentam alta eficiência, fácil manuseio para limpeza, e geram para as cervejarias um grande volume de água quente, que pode ser usado no processo de lavagem do mosto.

4.5.6 Fermentação

Antes de inocular a levedura, para dar início ao processo de fermentação é necessário realizar a aeração do mosto, essencial para o crescimento das leveduras que é realizado através do metabolismo oxidativo (respiração). Nas cervejarias a aeração é realizada com adição de ar estéril ou oxigênio na linha de resfriamento, logo após os trocadores de calor (AQUARONE et al., 2001).

O processo de fermentação é iniciado após a inoculação da levedura, com o mosto já devidamente resfriado e aerado. (SANTOS, 2008). Nesta fase ocorre a transformação dos açúcares fermentescíveis em etanol e gás carbônico sob condições anaeróbicas, além da síntese de compostos de aroma e sabor característicos de cerveja. A temperatura ideal para as cervejas de baixa

fermentação é de 8 a 11°C e a fermentação dura de 5 a 7 dias. A temperatura ideal para as cervejas de alta fermentação é de 18 a 22°C, e essa etapa decorre em 3 a 5 dias (BRUNELLI, 2012).

4.5.7 Maturação

Após a retirada do fermento, acontece o abaixamento da temperatura no tanque iniciando assim a fase da maturação, de no mínimo 72 horas. Ocorrem importantes reações físico-químicas de transformação do aspecto visual da bebida, além da produção de aromas e sabores característicos. Essa etapa é considerada por muitos cervejeiros como a fase de “afinamento” de “acabamento” da cerveja (TOZETTO, 2017 apud. MORADO, 2009).

O objetivo da maturação é refinar o sabor e o aroma da cerveja pela redução do teor de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico, além do aumento do teor de éster; carbonatar parcialmente o produto (por meio da fermentação secundária); evitar a ocorrência de oxidações que comprometam sensorialmente a bebida e clarificar o líquido através de deposição do fermento e outros materiais em suspensão (BRUNELLI, 2012).

Por meios naturais, as ales passam por um período de maturação de poucos dias, menos de um mês. As Ales fortes podem precisar de um período de maturação de até um ano. As Lagers precisam de um longo período, que varia de seis meses a nove meses, para suavizar seu aroma e sabor (EVANGELISTA, 2012). Entretanto, os processos industriais que produzem cerveja em longa escala reduzem esse processo em poucas semanas, controlando temperatura e pressão nas dornas (HEINEKEN UNIVERSITY, 2015).

4.6 Propriedades medicinais e toxicologia de *Quassia amara L.*

Os principais componentes químicos da *Quassia amara L.* são os quassinóides, alcaloides indólicos, esteróides, ácidos alifáticos e ácidos aromáticos (GILBERT; FAVORETO, 2010). Segundo Lorenzi e Matos (2002) A madeira e o córtex de *Quassia amara* vêm sendo empregadas principalmente na região do Baixo Amazonas, desde longa data, em substituição à casca de Cinchona contra a

malária. Toma (2001) registrou o uso do decocto das cascas e da madeira como antimicrobiano, analgésico, e como digestivo. O controle clínico da pediculose humana por um decocto da madeira e córtex de *Quassia amara* foi comprovado em ensaio clínico duplo cego contra placebo (NINCI, 1991). Segundo Cecchini (1971) e Diaz et al. (2006), na Europa, se preparam vinhos amargos por maceração de uma pequena quantidade de madeira, para combater náuseas.

A planta está incluída na “lista verde” da FDA como geralmente segura, sendo seu principal agente amargo, quassina, aprovado como aditivo alimentar. Estudos realizados em ratos e camundongos não registram toxicidade oral em dosagens até 5 g/Kg. Entre os principais efeitos adversos são registrados a ocorrência de redução da fertilidade em ratos machos, além de irritação da mucosa gástrica, náuseas e vômito, quando em doses elevadas (MELLO et al., 2009).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

O malte pale foi adquirido na cervejaria Tauá localizada na cidade de Campo Mourão-PR.

A *Quassia amara L.* foi adquirida na loja Armazém Natural, especializada em produtos naturais, localizada também na cidade de Campo Mourão-PR.

Todos os outros materiais utilizados foram adquiridos no Lamas Brew Shop, site especializado em venda de materiais para cervejeiros caseiros com sede em Campinas-SP.

Para a elaboração da cerveja, a composição dos maltes foi de: 71% malte pale, 3,3% malte chateau café, 4,8% malte Crystal 110, 4% malte crystal 400, 3% malte crystal 240, 2,5 % malte chocolate, 2,5% malte chateau cara gold, 2,5% malte caraaroma e 6,4% de aveia. A água adicionada foi de 4 L.kg⁻¹ de malte. O pau-tenente (*Quassia amara L.*) foi adicionado no início da fervura com a concentração de 0,25g.L⁻¹ de cerveja. O cacau em pedaços foi adicionado na etapa de mosturação, junto com o malte, com a concentração de 7,41 g.L⁻¹ de cerveja (27 L de volume final de cerveja). A levedura utilizada foi uma English Ale da marca White labs (30 mL).

5.2 Métodos

5.2.1 Testes preliminares

Para a escolha do melhor substituinte para o lúpulo na fabricação de cerveja foram realizados testes preliminares que consistiram basicamente no preparo de chás de algumas ervas e madeiras: Jurubeba, pau-tenente, carqueja amarga, sene e boldo. Esses chás foram resfriados e adicionados a uma cerveja comercial de baixo teor de amargor. Assim foi possível analisar quais insumos poderiam conferir um sabor mais amargo à cerveja e, principalmente, quais formaram um sabor mais harmônico com a cerveja.

Com os testes preliminares, foram selecionados três possíveis substituintes para o lúpulo. O pau-tenente conferiu amargor intenso à cerveja, porém não conferiu nenhum sabor ou aroma, por outro lado, a carqueja-amarga conferiu sabor e aroma intensos sem nenhum amargor. A jurubeba conferiu sabor e aromas suaves e também nenhum amargor.

O sene e o boldo foram descartados por conferirem sabor e aroma desagradáveis que remetem a remédio.

5.2.2 Determinação dos agentes de amargor, sabor e aroma

O pau-tenente foi escolhido como substituinte para o lúpulo por apresentar alto teor de amargor sem conferir sabores ou aromas indesejados, tendo em consideração que a intensidade do amargor poderia ser regulada pelo uso de menores quantidades desse material.

Porém, o lúpulo não é responsável apenas por conferir amargor à cerveja, por isso foi necessário identificar outros agentes de sabor e aroma para a bebida. O cacau foi escolhido como agente de sabor e aroma para essa formulação por ser um insumo que harmoniza com cervejas escuras, já sendo amplamente utilizado por cervejeiros caseiros e cervejarias artesanais em estilos Porter ou Stout. Outra vantagem do cacau é ser encontrado em território nacional não precisando ser importado. Além de conferir um sabor levemente ácido à cerveja e contribuir para a coloração escura da mesma.

5.2.3 Mosturação

Os maltes foram adquiridos já moídos e, com exceção dos maltes café e chocolate, foram adicionados à tina de mosturação com 30L de água já a 35°C. Esta temperatura foi mantida por 10 minutos, logo se aumentou para 50°C ± 1°C por mais 10 minutos, aumentou-se então a temperatura para 64°C ± 1°C e manteve esta temperatura por 60 minutos, então, aumentou-se a temperatura para 70°C ± 1°C e foram adicionados o malte chocolate e o cacau em pedaços, após 15 minutos o malte café foi adicionado. O mosto ficou a temperatura de 70°C ± 1°C por 30 minutos no total, e por último a temperatura foi elevada a 78°C por 10 minutos com o

objetivo de inativar as enzimas. Os maltes café e chocolate não foram adicionados no início da mosturação, pois possuíam o objetivo de dar cor e aroma à cerveja, não sabor.

5.2.4 Filtração e lavagem do mosto

A filtração do mosto foi feita na própria tina de mosturação que possui um fundo falso. Foi feita a recirculação do mosto, que auxiliou na formação de uma camada filtrante de malte, até o mosto sair claro e límpido, para então ser transferido para a tina de fervura. A lavagem foi realizada utilizando água a 78°C, já com o pH regulado para 5,4. A água foi adicionada aos poucos sobre o malte, removendo assim o máximo dos açúcares fermentescíveis presentes no mosto.

5.2.5 Fervura e Turbilhonamento/Decantação

Após a lavagem, o mosto foi conduzido à fervura intensa pelo período de 60 minutos. Ao início da fervura foram adicionados 7,5 g de *Quassia amara L.* (paute-nente), correspondendo a 0,25 g.L⁻¹ do volume final programado.

Ao final da fervura o mosto tinha uma concentração de sólidos solúveis de 16,6°brix.

Com o objetivo de clarificar o mosto, após a fervura foi feito o turbilhonamento, que consiste em aplicar uma força centrípeta no mosto e deixá-lo em repouso por 40 minutos, permitindo que os sólidos (complexos de proteínas e compostos fenólicos) presentes no mosto sejam decantados e removidos.

5.2.6 Resfriamento

Após a etapa de fervura os cuidados com a contaminação devem ser redobrados, tendo em vista que não haverá mais nenhuma etapa que poderá destruir microrganismos, por isso, a técnica utilizada para resfriar o mosto teve como objetivo reduzir o tempo de resfriamento, reduzindo assim as chances de contaminação.

Uma serpentina de aço inox (12 m de comprimento por 12 mm de diâmetro) foi imersa em um recipiente de 22 L contendo 10 Kg de gelo, 3 Kg de sal e água suficiente para cobrir a serpentina. O mosto foi passado por dentro da serpentina saindo à temperatura de 17°C, ideal para a inoculação da levedura, e recolhido na tina de fermentação. Após a oxigenação do mosto, a levedura English Ale foi inoculada.

5.2.7 Fermentação e maturação

Com a levedura inoculada, a tina de fermentação foi fechada com um orifício na tampa onde foi introduzida uma mangueira que permite a liberação dos gases provenientes da fermentação. A fermentação foi conduzida a 17°C, e após um dia a temperatura foi elevada para 19°C por mais treze dias. Após esse período foi feita a trasfega da cerveja para as tinas de maturação, removendo os sólidos (proteínas e levedura) que se depositaram no fundo da tina de fermentação. Para a maturação, a cerveja foi separada em 6 tinas, cada uma com 4 litros de cerveja, onde foram introduzidas diferentes quantidades de cacau, para atingir as seguintes concentrações:

- A: sem adição de cacau.
- B: 1 g.L⁻¹ de cacau;
- C: 2 g.L⁻¹ de cacau;
- D: 3 g.L⁻¹ de cacau;
- E: 4 g.L⁻¹ de cacau;
- F: 5 g.L⁻¹ de cacau;

O cacau foi adicionado na etapa de maturação com o principal objetivo de conferir cor à bebida, conferindo também mais aroma e sabor.

Ao fim da fermentação a cerveja apresentou concentração de sólidos solúveis de 10,6°Brix, e uma densidade de 1,0431.

A maturação foi feita a 0°C durante 14 dias.

Com a adição do cacau na etapa de maturação, a absorvância das amostras se mostrou muito elevada, por isso, ao 10º dia de maturação, foram adicionados 40 g.hi⁻¹ de sílica gel SPINDASOL SB3 a cada tina, com o objetivo de clarificar as amostras.

5.2.8 Análise de pH

As análises de pH das amostras foram feitas utilizando pHmetro GEHAKA PG1400.

5.2.9 Análise de proteínas

A análise de proteínas foi feita utilizando o método de Bradford, que é uma técnica para a determinação de proteínas totais que utiliza o corante de “Coomassie brilliant blue” BG-250. Este método é baseado na interação entre o corante BG-250 e macromoléculas de proteínas que contém aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm (COMPTON e JONES, 1985).

5.2.10 Análise de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos constituem um grupo diverso de metabólitos secundários que apresentam atividade antioxidante, como flavonoides e taninos. Estes compostos constituem a classe mais abundante de metabólitos secundários nas plantas e compartilham uma origem em comum na via biossintética dos fenilpropanoides (DIAS et al. apud. GRACE e LOGAN, 2000).

Para determinação de compostos fenólicos totais, foi utilizada a metodologia de SINGLETON e ROSSI (1965).

5.2.11 Análise de teor alcoólico

O teor alcoólico das bebidas foi determinado pela técnica de crioscopia (PLATA-OVIEDO, 2009). Inicialmente 100 mL da bebida previamente descarbonatada e neutralizada com 5 mL de NaOH 3% foram destilados até completar um volume aproximado de 80 mL. Para a determinação do ponto de congelamento, 10 mL do destilado foram diluídos até um volume final de 50 mL.

Neste caso o fator de diluição de amostra foi de cinco. Os pontos de congelamento das amostras diluídas foram determinados em aparelho Crioscópio MC 5400.

O teor alcoólico das bebidas foi quantificado através da equação da curva de calibração (Eq. 1) que relaciona o teor de etanol (%v/v) com o descenso no ponto de congelamento.

$$\% \text{Etanol (v/v)} = [(2,944467 \times \Delta t \text{ } ^\circ\text{H}) + 0,021435] \times \text{fator de diluição} \quad (\text{Eq. 1})$$

$r^2=0,9989$

Onde: $\Delta t \text{ } ^\circ\text{H}$ = diminuição do ponto de congelamento (valor absoluto).

5.2.12 Análise de cor e turbidez

A determinação da cor das amostras foi realizada segundo metodologia de AOAC (1995) utilizando o método espectrofotométrico, que se baseia em medir a absorbância das amostras, previamente descarbonatadas e a 20°C, a um comprimento de onda de 430 nm, utilizando água destilada como branco. A cor foi calculada pela equação 2 e os resultados obtidos são expressos em °EBC (European Brewery Convention).

$$\text{Cor (}^\circ\text{EBC)} = 25 \times A_{430} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

A_{430} : Absorbância da amostra a 430 nm

25: Fator de correção

A análise de turbidez foi realizada através do turbidímetro (HANNA HI 93414) com feixe de leitura em 525 nm, que usa um detector de luz dispersa (90°) e um detector de luz transmitida em 180°. O aparelho usa os critérios especificados por Método 180.1 de USEPA e Método 2130 B de Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. A turbidez é fornecida em unidades NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez). Segundo Caldas (2013) é possível relacionar NTU com °EBC a partir da equação 3.

$$^{\circ}EBC = \frac{NTU}{4} \quad (\text{Eq. 3})$$

5.2.13 Análise estatística

Os resultados das análises foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) e verificada a significância dos modelos pelo teste F. Nos modelos significativos, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o programa BioEstat versão 5.3.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os valores apresentados representam as médias das análises realizadas em triplicata para cada uma das amostras.

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as diferenças das médias comparadas através do teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade para verificar possível diferença entre as amostras.

6.1 Proteínas

Os resultados das análises dos teores de proteína estão apresentados em dois momentos: fermentação e maturação, onde foram adicionados de 1 a 5 g de cacau.L⁻¹ de mosto. O teor de proteínas no primeiro dia da fermentação foi 935,79 ± 5,92 mg.L⁻¹, e ao final da fermentação de 843,44 ± 2,23 mg.L⁻¹. Observou-se que durante este período houve uma diminuição do teor de proteínas (p < 0,05) que pode ser atribuído ao processo de sedimentação natural observado em processos de fermentação de cerveja (DEVOLLI, et. al. 2018).

A Tabela 1 mostra o comportamento das amostras em relação ao teor de proteínas ao longo da maturação em mg.L⁻¹.

Tabela 1 - Resultados das análises de proteínas (mg.L^{-1}) ao longo da maturação

Etapas	A	B	C	D	E	F
MM	666,55 _{abA} ± 19,63	705,7 _{aA} ± 18,43	677,03 _{abA} ± 4,37	665,50 _{abA} ± 9,98	650,82 _{bA} ± 10,35	646,28 _{bA} ± 4,54
FM	663,42 _{abA} ± 4,28	659,36 _{abB} ± 5,07	663,42 _{abA} ± 6,71	668,70 _{aA} ± 12,83	646,77 _{abA} ± 11,62	640,28 _{bA} ± 6,71

MM – Meio da maturação, FM – Fim da maturação. A – sem adição de cacau, B – 1 g.L^{-1} de cacau, C – 2 g.L^{-1} de cacau, D – 3 g.L^{-1} de cacau, E – 4 g.L^{-1} de cacau, F – 5 g.L^{-1} de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre amostras. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre etapas.

Segundo Efraim, et al., (2011) o cacau fermentado e torrado apresenta um teor de proteínas de 17,42% portanto, era esperado um aumento no teor de proteínas das amostras onde foi introduzido o cacau durante a etapa de maturação, devido à migração das mesmas dos nibs de cacau para o mosto. Porém não foi observada diferença significativa entre as amostras, com exceção da amostra B (1 g.L^{-1} de cacau), que se diferenciou das amostras E e F (4 e 5 g.L^{-1} de cacau) no meio da maturação ($p < 0,05$) e da amostra D (3 g.L^{-1} de cacau) que se diferenciou da amostra F (5 g.L^{-1} de cacau) no fim da maturação.

A interpretação global dos resultados indica que as proteínas (albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas) tornam-se insolúveis pela combinação da fermentação e do tratamento térmico aplicado aos nibs de cacau, conforme descrito por Zak e Keeney (1976).

Ao comparar os teores de proteínas entre as etapas MM e FM foi observado que não houve diferença significativa entre elas, exceto na amostra B (1 g.L^{-1} de cacau), que demonstrou um acréscimo significativo no teor de proteínas entre as etapas.

Os resultados obtidos confirmam a insolubilidade das proteínas presentes no cacau após o mesmo passar pelos processos de fermentação e tratamento térmico, descrito por Zak e Keeney (1976), pois não houve diferença no teor de proteínas entre as amostras, nem com o contato do cacau com o mosto ao decorrer do tempo.

6.2 Compostos Fenólicos

Os resultados das análises de compostos fenólicos também foram apresentados em dois momentos: fermentação e maturação. O teor de compostos fenólicos no primeiro dia de fermentação era de $1760,35 \pm 42,47$ mg EAG.L⁻¹ e ao final da fermentação de $1618,69 \pm 16$ mg EAG.L⁻¹ ($p < 0,05$). Conforme descrito por Freitas (2006), os compostos fenólicos interagem com as proteínas da cerveja aumentando a turbidez da mesma e, conseqüentemente, são arrastados para o fundo junto com as proteínas no processo de sedimentação, explicando assim, a diminuição significativa no teor de compostos fenólicos ao longo do processo de fermentação.

A Tabela 2 mostra o comportamento das amostras, em relação ao teor de compostos fenólicos, ao longo do processo de maturação. Valores expressos em mg EAG.L⁻¹.

Tabela 2 - Resultados das análises de compostos fenólicos (mg equivalente de ácido gálico.L⁻¹) ao longo da maturação

Etapas	A	B	C	D	E	F
MM	1597,07 _{aA} ± 13,52	1598,96 _{aA} ± 9,08	1594,37 _{aA} ± 3,20	1594,70 _{aA} ± 6,04	1641,31 _{abA} ± 8,87	1661,18 _{bA} ± 14,62
FM	1587,89 _{aA} ± 7,27	1586,86 _{aA} ± 8,23	1593,53 _{aA} ± 2,31	1589,17 _{aA} ± 6,27	1629,43 _{bA} ± 1,60	1639,69 _{bA} ± 6,11

MM – Meio da maturação, FM – Fim da maturação. A – sem adição de cacau, B – 1 g.L⁻¹ de cacau, C – 2 g.L⁻¹ de cacau, D – 3 g.L⁻¹ de cacau, E – 4 g.L⁻¹ de cacau, F – 5 g.L⁻¹ de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre amostras. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre etapas.

Segundo BRITO (2000) a quantidade total de compostos fenólicos solúveis presentes em farinhas desengorduradas da semente fresca de cacau representa cerca de 15 a 20% do seu conteúdo. Por outro lado, em sementes fermentadas esse valor cai para 5%. Este fato é explicado por Shahidi e Naczki (2003), que afirmam que a etapa de fermentação envolve algumas mudanças no conteúdo fenólico do cacau, ocorrendo uma forte diminuição do teor de compostos fenólicos totais solúveis e a polimerização de compostos, sobretudo de epicatequinas entre si ou com antocianidinas, para formar taninos de alto peso molecular.

Ao observar os resultados das análises realizadas no meio da maturação, é possível perceber que a amostra F (5 g.L⁻¹ de cacau) apresenta diferença significativa em relação a todas as outras, com exceção da amostra E (4g.L⁻¹ de cacau). Isso mostra que os compostos fenólicos presentes no cacau migraram para o mosto, porém, essa migração só se mostrou significativa onde foi adicionada a maior concentração de cacau, no caso, a amostra F.

Analisando o comportamento das amostras ao fim da maturação, observa-se que, agora, as amostras E e F (4 e 5 g.L⁻¹ de cacau) se diferenciam significativamente de todas as outras e não se diferem entre si.

Ao comparar os teores de compostos fenólicos entre as etapas MM e FM, nenhuma amostra mostrou diferença significativa entre as etapas. Porém, a amostra E, que no início da maturação não apresentava diferença significativa em relação a todas as outras amostras, no fim da fermentação começa a apresentar. Com isso, é possível concluir que mesmo com baixos teores de compostos fenólicos solúveis nas amêndoas de cacau fermentadas, ainda há migração dos mesmos para o mosto, quando os nibs de cacau são adicionados em quantidades significativas, no caso, 4 e 5 g.L⁻¹.

O teor de compostos fenólicos nas cervejas contendo nibs de cacau (1587 a 1640 mg EAG.L⁻¹) encontra-se próximo de alguns vinhos brasileiros como Cabernet Sauvignon/Shiraz (1411 mg EAG.L⁻¹), Merlot (1543 mg EAG.L⁻¹) e inferiores a Cabernet Sauvignon (1764 a 3719 mg EAG.L⁻¹) (OLIVEIRA, 2011).

6.3 Absorbância

As análises de absorbância foram feitas em espectrofotômetro FEMTO 600 PLUS a 600 nm. No primeiro dia de fermentação a absorbância da cerveja era de $1,984 \pm 0,004$ e ao fim da fermentação de $1,589 \pm 0,005$. A diminuição significativa na absorbância da cerveja também pode ser atribuída ao processo de sedimentação natural observado no processo de fermentação da cerveja, como descrito por Devolli, et. al. (2018).

Na Tabela 3 é possível observar os valores das absorbâncias das amostras durante a maturação.

Tabela 3 - Resultados das análises de absorvância (600 nm) ao longo da maturação

Etapas	A	B	C	D	E	F
MM	1,601 _{aA} ± 0,002	1,922 _{bA} ± 0,001	1,922 _{bA} ± 0,002	1,926 _{bcA} ± 0,001	1,931 _{cA} ± 0,001	2,030 _{dA} ± 0,002
FM	1,291 _{aB} ± 0,001	1,338 _{bB} ± 0,002	1,354 _{cB} ± 0,001	1,373 _{dB} ± 0,003	1,395 _{eB} ± 0,003	1,451 _{fB} ± 0,001

MM – Meio da maturação, FM – Fim da maturação. A – sem adição de cacau, B – 1 g.L⁻¹ de cacau, C – 2 g.L⁻¹ de cacau, D – 3 g.L⁻¹ de cacau, E – 4 g.L⁻¹ de cacau, F – 5 g.L⁻¹ de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre amostras. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre etapas.

Observando as análises de absorvância no meio da maturação é possível perceber um aumento significativo em relação ao fim da fermentação (1,589 ± 0,005). Isso pode ser explicado por Machado (2007), que afirma que ao se adicionar cacau na etapa de maturação da cerveja os compostos de cor do mesmo são extraídos com mais eficiência, aumentando também sua turbidez. Nessa etapa observa-se que a amostra de controle (A) apresentou um valor significativamente menor que todas as outras, enquanto a amostra com maior concentração de cacau (F) apresentou um valor significativamente maior que todas as outras. As amostras B, C e D não apresentaram diferença significativa entre si, e as amostras D e E também não apresentaram diferença significativa entre si.

Ao observar as análises no fim da maturação é possível perceber um aumento na absorvância das amostras conforme o aumento da concentração de cacau, onde todas as amostras se diferenciam significativamente entre si.

A diminuição na absorvância das amostras entre as etapas se mostra significativa em todos os casos, devido à adição do agente clarificador sílica gel SPINDASOL SB3 que, segundo o fabricante AEB BIOQUIMICA (2019) as partículas em suspensão são adsorvidas à sílica, formando partículas pesadas que precipitam imediatamente, conferindo aos líquidos alimentares um aspecto mais cristalino.

6.4 Teor Alcoólico

O teor alcoólico das amostras foi medido somente ao fim da maturação. Os resultados das análises podem ser observados na Tabela 4. Valores expressos em % (v/v).

Tabela 4 - Resultados das análises de teor alcoólico (% v/v) ao fim da maturação

Etapas	A	B	C	D	E	F
FM	5,615 _a ± 0,002	5,632 _a ± 0,001	5,630 _a ± 0,001	5,655 _a ± 0,003	5,751 _b ± 0,002	5,791 _b ± 0,001

FM – Fim da maturação. A – sem adição de cacau, B – 1 g.L⁻¹ de cacau, C – 2 g.L⁻¹ de cacau, D – 3 g.L⁻¹ de cacau, E – 4 g.L⁻¹ de cacau, F – 5 g.L⁻¹ de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre amostras.

Observando os resultados das análises percebe-se que houve um aumento no teor alcoólico das amostras conforme se aumentou a concentração de cacau nas mesmas, porém, esse aumento só se mostra significativo entre as amostras E e F (que não se diferenciam entre si) e todas as outras.

Este aumento no teor alcoólico pode ser explicado por Speers (1999), que afirma que a etapa de maturação também pode ser chamada de fermentação secundária, pois ainda existem células de levedura no mosto que proporcionam uma fermentação mais lenta e controlada. Porém, como descrito por THOMPSON (2001), no processo de fabricação dos nibs de cacau, as amêndoas são fermentadas e seus altos teores de açúcar são transformados em álcool e CO₂. O que leva a entender que o aumento no teor alcoólico das amostras com maiores concentrações de cacau foram causadas pela fermentação secundária dos baixos teores de açúcar ainda presentes nos nibs de cacau após sua fermentação.

A partir do teor alcoólico as cervejas podem ser classificadas em sem álcool (< 0,5%), baixo teor alcoólico (0,5 a 2,%), médio teor alcoólico (2,0 a 4,5%) e alto teor alcoólico (4,5 a 8,0%) (BRASIL, 1997). Portanto, todas as amostras podem ser classificadas como cerveja com alto teor alcoólico.

6.5 pH

Ao primeiro dia de fermentação, o pH da cerveja era de 4,99 ± 0,01 e ao fim da fermentação de 3,71 ± 0,02. O comportamento de redução brusca do pH durante o período de fermentação é explicado por Reinold (1997) que afirma que os responsáveis por essa queda são os ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação do mosto, como o ácido lático, succínico e acético.

A Tabela 5 mostra os resultados das análises do pH das amostras ao longo da maturação.

Tabela 5 - Resultados das análises de pH ao longo da maturação

Etapas	A	B	C	D	E	F
MM	3,72 _a ± 0,00	3,69 _a ± 0,00	3,71 _a ± 0,00	3,71 _a ± 0,00	3,74 _a ± 0,00	3,71 _a ± 0,00
FM	3,70 _a ± 0,00	3,67 _a ± 0,00	3,70 _a ± 0,00	3,70 _a ± 0,00	3,72 _a ± 0,00	3,69 _a ± 0,00

MM – Meio da maturação, FM – Fim da maturação. A – sem adição de cacau, B – 1 g.L⁻¹ de cacau, C – 2 g.L⁻¹ de cacau, D – 3 g.L⁻¹ de cacau, E – 4 g.L⁻¹ de cacau, F – 5 g.L⁻¹ de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre amostras. Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre etapas.

Observando os resultados das análises ao meio e ao fim da maturação, percebe-se que não houve diferença significativa entre o pH das amostras durante cada etapa, nem entre as etapas. Porém, o pH se apresentou muito abaixo do esperado, não atendendo às especificações de Compton (1978), que afirma que a cerveja deve apresentar o pH dentro da faixa de 3,8 a 4,7 para ser considerada normal. Dentre as Ales o pH está no intervalo de 4,0 a 4,3, as Lambic de 3,4 a 3,9, as Framboise de 3,3 a 4,5 e as de trigo de 3,2 a 3,4.

A queda brusca do pH pode ser explicado pela alta concentração de nibs de cacau adicionada na mosturação que, segundo estudos realizados por Camu et al. (2008), leveduras, bactérias lácticas e bactérias acéticas são responsáveis pela fermentação das amêndoas de cacau, formando álcool, ácido láctico e ácido acético, o que reduz o pH das mesmas. Esse estudo é confirmado por Schwan e Wheals (2010) que explica que em condições ácidas, as leveduras convertem açúcar em álcool. Em seguida ocorre o desenvolvimento de bactérias lácticas que contribuem para a decomposição do açúcar para ácido láctico, e assim que a polpa do cacau é esgotada, o ambiente se torna aeróbio, permitindo o desenvolvimento de bactérias acéticas, promovendo a formação de ácido acético e a consequente redução do pH interno da amêndoa pela maior concentração de ácido.

A acidez titulável de amêndoas de cacau fermentadas e secas pode variar de 12,00 a 13,76 meq NaOH.100g⁻¹ (EFRAIM et al., 2011) que correspondem de 1,08 a 1,24 g de ácido láctico por 100 g de cacau torrado. Nos 27 L de volume final da bebida a contribuição na acidez pelos nibs encontra-se no intervalo de 2,16 g a 2,48 g de ácido láctico. A regulagem do pH do mosto para 5,2 foi realizada minutos antes do início da mosturação. Portanto é provável que a liberação do ácido láctico retido

no interior dos nibs aconteceu ao longo do processo de mosturação. Esse “extra” do ácido orgânico provavelmente contribuiu para a diminuição do pH da bebida final.

É importante ressaltar que a diminuição do pH da cerveja durante os processos de fermentação e maturação podem indicar que a mesma foi contaminada por bactérias lácticas ou acéticas, porém essa possibilidade é pouco provável tendo em vista que os equipamentos utilizados foram devidamente sanitizados com vapor e o microambiente onde a tina de fermentação foi mantida estava com atmosfera de ozônio, impedindo qualquer crescimento microbiano.

6.6 Cor e turbidez

A cor da cerveja é determinada pela absorvância de luz em 430 nm na cerveja considerada livre de partículas em suspensão, enquanto a turbidez avalia a claridade de um fluido perturbado pela presença de partículas em suspensão que interrompem a passagem da luz ou provocam a dispersão da mesma (SHELLHAMMER, 2011).

As análises de cor e turbidez foram realizadas nas amostras ao fim da maturação e os resultados podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6 - Resultados das análises de cor e turbidez das amostras ao fim da maturação

Análises	A	B	C	D	E	F
Cor (°EBC)	60,77 _a ± 0,02	61,55 _b ± 0,01	61,72 _c ± 0,01	62,72 _d ± 0,03	63,42 _e ± 0,01	65,95 _f ± 0,02
Turbidez (°EBC)	56,50 _a ± 0,00	57,00 _b ± 0,00	62,75 _c ± 0,00	64,75 _d ± 0,00	70,00 _e ± 0,00	76,00 _f ± 0,00

A – sem adição de cacau, B – 1 g.L⁻¹ de cacau, C – 2 g.L⁻¹ de cacau, D – 3 g.L⁻¹ de cacau, E – 4 g.L⁻¹ de cacau, F – 5 g.L⁻¹ de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre amostras.

Com base nos resultados apresentados, percebe-se que houve um aumento significativo ($p < 0,01$) na cor e turbidez das amostras com o aumento da concentração de cacau nas mesmas, com exceção das amostras A e B na análise de turbidez, que não apresentaram diferença significativa. Este comportamento pode ser explicado levando em consideração o comportamento das amostras com relação ao teor de compostos fenólicos, onde foi observado um aumento significativo dos

mesmos nas amostras com maiores concentrações de cacau (4 e 5 g.L⁻¹), que segundo Rodrigues (2013), na indústria cervejeira, proteínas ricas em prolina combinam-se com polifenóis e produzem compostos que contribuem para a turbidez da cerveja. Este comportamento é confirmado por Cárdenas (2003), que afirma que as proteínas que se combinam com os compostos fenólicos formando a turbidez são ricas em prolina, enquanto peptídeos sem prolina não formam turvação. Assim, aumentando a concentração de compostos fenólicos, aumenta a interação com as proteínas, formando uma maior turbidez.

6.7 Comparação com cervejas comerciais

Com o intuito de comparar os resultados obtidos, foram realizadas as mesmas análises em duas cervejas comerciais dos estilos Porter e Stout.

Na Tabela 7 é possível observar os resultados destas análises, junto com as análises realizadas nas amostras ao fim da maturação.

Tabela 7 - Resultados das análises das amostras ao fim da maturação comparando com cervejas Porter e Stout adquiridas no mercado

Amostra	Proteínas (mg.L ⁻¹)	Compostos fenólicos (mg EAG.L ⁻¹)	Abs a 600 nm	%Etanol (v/v)	pH	Cor (°EBC)
A	663,42 _{abc} ± 4,28	1587,89 _a ± 7,27	1,291 _a ± 0,001	5,615 _a ± 0,002	3,70 _a ± 0,00	60,77 _a ± 0,02
B	659,36 _{abcd} ± 5,07	1586,86 _a ± 8,23	1,338 _b ± 0,002	5,632 _a ± 0,001	3,67 _a ± 0,00	61,55 _b ± 0,01
C	663,42 _{ac} ± 6,71	1593,53 _a ± 2,31	1,354 _c ± 0,001	5,630 _a ± 0,001	3,70 _a ± 0,00	61,72 _c ± 0,01
D	668,70 _{abc} ± 12,83	1598,17 _a ± 6,27	1,373 _d ± 0,003	5,655 _a ± 0,003	3,70 _a ± 0,00	62,72 _d ± 0,03
E	646,77 _{abd} ± 11,62	1629,43 _b ± 1,60	1,395 _e ± 1,60	5,751 _b ± 0,002	3,72 _a ± 0,00	63,42 _e ± 0,01
F	640,27 _{bd} ± 6,71	1639,69 _b ± 6,11	1,451 _f ± 0,001	5,791 _b ± 0,001	3,69 _a ± 0,00	65,95 _f ± 0,02
Porter	678,25 _c ± 2,3	1246,55 _c ± 7,1	0,747 _g ± 0,002	6* _c ± 0,000	4,19 _b ± 0,00	58,17 _g ± 0,01
Stout	641,23 _d ± 4,6	1580,55 _a ± 8,3	0,804 _h ± 0,001	8* _d ± 0,000	4,25 _b ± 0,00	59,92 _h ± 0,02

A – sem adição de cacau, B – 1 g.L⁻¹ de cacau, C – 2 g.L⁻¹ de cacau, D – 3 g.L⁻¹ de cacau, E – 4 g.L⁻¹ de cacau, F – 5 g.L⁻¹ de cacau. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre amostras.

* valores informados no rótulo

Observando os resultados das análises das cervejas adquiridas no mercado percebe-se que, na maioria dos parâmetros, houve diferença significativa em relação às cervejas contendo nibs.

Analisando o teor de proteínas das cervejas, a Porter se diferenciou significativamente das amostras E e F (4 e 5 g.L⁻¹) e a Stout se diferenciou significativamente das amostras A, B, C e D (0, 1, 2 e 3 g.L⁻¹). Isso indica que o teor de proteínas da cerveja produzida se aproxima daquelas adquiridas no mercado.

Quanto ao teor de compostos fenólicos observou-se que a cerveja Porter apresentou um valor significativamente menor ($p < 0,05$) com relação a todas as outras, porém a Stout apresentou um valor significativamente inferior apenas em relação amostras E e F (4 e 5 g.L⁻¹).

Com isso, é possível concluir que a bebida elaborada se aproxima do estilo Stout, com relação aos compostos fenólicos, quando não acrescida de altas concentrações de cacau na etapa de maturação. Por outro lado, todas as amostras apresentaram valores muito elevados com relação ao estilo Porter.

As análises de absorvância a 600 nm indicam que as bebidas elaboradas são mais escuras e/ou opacas apesar da clarificação com sílica gel, sugerindo que esses maiores valores foram devidos à extração da cor dos nibs de cacau.

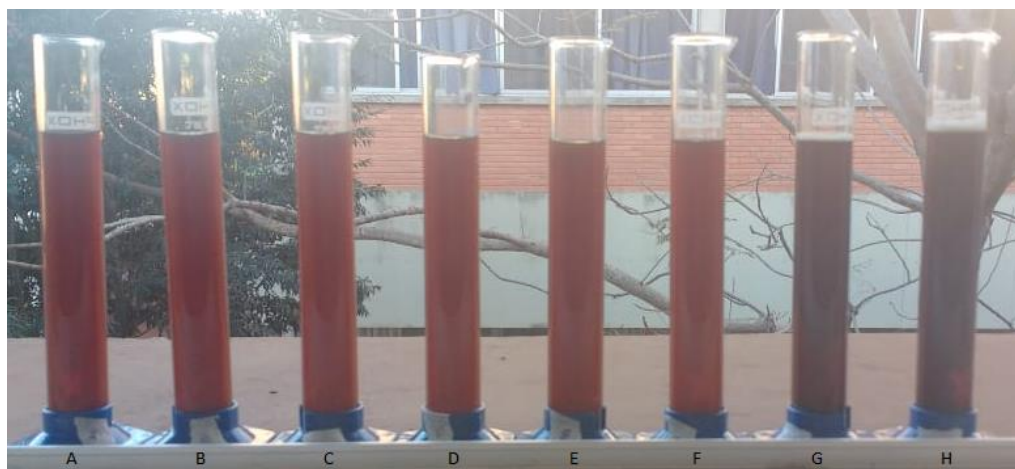
Com relação ao teor alcoólico, as cervejas adquiridas no mercado apresentaram valores significativamente maiores com relação a todas as amostras.

Ao comparar os valores de pH das cervejas foi possível confirmar que a cerveja elaborada apresentou valores muito abaixo do esperado, tendo em vista que o estilo Porter e Stout apresentaram pH de 4,19 e 4,25 respectivamente, valores que se enquadram nas especificações descritas por Compton (1978), que diz que as Ales devem apresentar pH no intervalo de 4,0 a 4,3.

A cor das cervejas situou-se no intervalo de 60,77 a 65,59 °EBC, e esta aumentou com o incremento da quantidade de cacau por litro adicionada na maturação; esses valores se encontram dentro das especificações de cor para a cerveja American Porter (43 a 79 °EBC) e American Stout (59 a 79 °EBC). Porém elas foram mais turvas (56,5 a 76 °EBC) em relação às duas cervejas comerciais (1,16 e 9,7 °EBC) já que no processo artesanal a separação dos sólidos em suspensão foi realizada pela combinação de sedimentação com o auxílio de um clarificante (sílica) e filtração em papel filtro de porosidade 3 micras que permite a passagem de partículas em suspensão aumentando os valores de turbidez.

Na figura 4 observa-se as amostras da bebida produzida ao lado das cervejas adquiridas no mercado, possibilitando a comparação entre as cores das mesmas

Figura 4 - Comparação das cores das amostras com as cervejas estilos Porter e Stout adquiridas no mercado



A – sem adição de cacau, B – 1 g.L^{-1} de cacau, C – 2 g.L^{-1} de cacau, D – 3 g.L^{-1} de cacau, E – 4 g.L^{-1} de cacau, F – 5 g.L^{-1} de cacau, G – Porter, H - Stout

6.8 Observações sobre Características Organolépticas das Cervejas

A bebida produzida apresentou cor marrom médio, levemente avermelhada e opaca, com sabor e aroma intensos de cacau.

A bebida fermentada possui sabor ácido não característico da cerveja, mas sem evidência organoléptica de fermentação acética ou láctica. A acidez organoléptica diminuiu com o aumento do tempo de maturação; apresenta sabor levemente adocicado, sabor moderado de maltes torrados que remete ao café e sabor mais intenso de amêndoas de cacau e sabor alcoólico acompanhando o conjunto da bebida, e amargor moderado, provavelmente pela baixa dosagem de *Quassia amara L.* ($0,25 \text{ g.L}^{-1}$). Quanto ao corpo foi classificado de médio aveludado sendo fácil de beber. O aroma de cacau se mostrou predominante em todas as amostras, com um complemento do aroma dos maltes torrados.

A diferença mais perceptível entre as amostras é o sabor e aroma de cacau, que pode ser percebido em todas, porém as amostras com maiores concentrações de cacau apresentam seu sabor e aroma mais acentuados, enquanto nas amostras com concentrações menores, ou sem adição de cacau os aromas e sabores dos maltes torrados são mais perceptíveis.

7. CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que é possível produzir uma bebida fermentada de malte, utilizando *Quassia amara L.* em substituição do lúpulo como fonte de amargor, e com adição de nibs de cacau, obtendo-se uma bebida escura com características sensoriais semelhantes às cervejas Porter ou Stout.

Com relação à adição de nibs de cacau concluiu-se que eles são responsáveis por uma diminuição significativa no pH da cerveja, o que pode ser interessante para alguns estilos. Mostrou também um aumento significativo na absorbância, na cor e no teor de compostos fenólicos, o que é interessante para a bebida, pois conferem propriedades antioxidantes à mesma. A adição do cacau (4 e 5 g.L⁻¹) também contribuiu para um ligeiro aumento no teor alcoólico da bebida. Com relação às proteínas o cacau não demonstrou interferência significativa.

Utilizando *Quassia amara L.* como fonte de amargor para a cerveja, é possível criar receitas com sabores e aromas completamente diferentes dos tradicionalmente encontrados no mercado atual, utilizando diversos agentes de sabor e aroma em complemento ao amargor sem se preocupar com a harmonização com os fortes e característicos sabores e aromas do lúpulo.

8. REFERÊNCIAS

AEB BIOQUIMICA LATINOAMERICANA S/A. **Sol de sílica para clarificação de líquidos alimentares Spindasol SB3**. São José dos Pinhais, PR, 2019. Disponível em: <http://files.graugl.webnode.com/2000008104c64f4d595/Spindasol_SB3_FTS.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2019.

ALMEIDA, M. M. B.; et al. **Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década**. Química Nova, v. 30, n. 4, p. 935–951, 2007.

AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia Industrial - Volume 4 – Biotecnologia da Produção de Alimentos**. Edgard Blucher, São Paulo, 2001.

ARLORIO, et al. **Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from Theobroma cacao hulls extracted with supercritical CO₂**. Food Research International, v. 38 p. 1009-1014, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1995. **Official Methods of analysis**. 12° edición. The Association: Whashington, D.C.942 p.

BONACCORSI, M. M. **Guia de estilos de cerveja**. p. 70-71, 2016.

BOTELHO, B.G. **Perfil e teores de aminos bioativas e características físico-químicas em cervejas**. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing yeast and fermentation**. Wiley Online Library, 2001.

BRASIL. **Decreto n. 2.314**, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei n. 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. Boletim IOB, n. 38, p. 11-30, 1997.

BRIGGS, Dennis E.; et al. **Brewing: Science and Practice**. Boca Raton, USA: CRC press, 2004.

BRITO, E. S. **Estudo das mudanças estruturais e químicas produzidas durante a fermentação, secagem e torração de amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) e proposta de tratamentos para o melhoramento do sabor.** Tese (Doutorado em tecnologia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2000.

BRUNELLI, L. T. **Produção de Cerveja com Mel: Características Físico-Químicas, Energética e Sensorial.** 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)- Faculdade de Ciências Agrônômicas Câmpus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu, 2012

CAMU, N.; WINTER, T; ADDO, S. K.; TAKRAMA, J. S.; BERNAERT, H.; VUYST1, L. **Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v 88, p. 2288–2297, 2008.

CARVALHO, L. G. **Dossiê Técnico. Produção de cerveja.** Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, mar. 2007. Disponível em:<<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTc=>> . Acesso em: 28/ago/2018

CECCHINI, T. **Enciclopedia de las hierbas y de las plantas medicinales.** Ed. De Vecchi, Barcelona. p.153, 1971.

COMPTON, S. J.; JONES, C. G.; **Anal. Biochem.** 1985, 151, 369.

CRUZ. I. et al. **Produção de Cerveja.** Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Eng. Química e Eng. de alimentos. Florianópolis, Santa Catarina, 2008.

DEVOLLI, A.; DARA, F.; STAFASANI, M.; SHAHINASI, E.; KODRA, M., **The influence of protein content on beer quality and colloidal stability.** International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research, Vol. 2 (4), 2018.

DÍAZ, R.; HERNÁNDEZ, L.; OCAMPO, R.; CICCIO, J.F. Domesticación y Fitoquímica de *Quassia amara* (Simaroubaceae) em el trópico húmedo de Costa Rica. Lankesteriana, v.6, p.49-64, 2006.

EFRAIM, P.; ALVES, A. B.; JARDIM, D. C. P. **Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde**. Brazilian Journal of food technology, Campinas, v. 14, n. 3, 2011.

ERTHAL A. D. **Microcervejaria**. SEBRAE, 2006. Disponível em:<<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ufs/sc?codUf=25>> . Acesso em: 28 out. 2018.

ESSLINGER, H. M. **Handbook of brewing: Processes, Technology e Markets**. Weinheim: WILEY-VCH, 2009.

EUWA, M. Eumann. Water in brewing. In: **Brewing New technology**. Published in North America, 2006.

EVANGELISTA, R. R. **Análise do processo de fabricação industrial de cerveja**. 2012. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Tecnologia em Biocombustíveis. Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba, 2012.

FREITAS, G. L. **Potencial antioxidante e compostos fenólicos na cerveja, chopp, cevada (Hordeum vulgare L.) e no bagaço de brassagem**. 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC.

GARBIN, R. F. **Turismo cervejeiro: A cerveja artesanal brasileira**. Mestrado Profissional em Turismo, Universidade de Brasília, Centro de Excelência em Turismo. Brasília, Distrito Federal, 2017.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. **Quassia amara L. (Simaroubaceae)**. Núcleo de Gestão em Biodiversidade e Saúde, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, NGBS. Rio de Janeiro, RJ. 2010.

GRACE, S.C.; LOGAN, B.A. **Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway**. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, v.355, p.1499- 1510, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1692864/pdf/11128003.pdf>> Acesso em: 15 mai. 2019.

HORNSEY, I.S. **Brewing**. The Royal Society of Chemistry, Cap. 2: Malting. 1999.

HUGHES, P. S.; BAXTER, E. D. **Beer-quality, safety and nutritional aspects.** Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry. Cap. 5: Nutricional Aspects of Beer, 2001.

ICCO. 2007. Annual Report 2006/2007. Disponível em: <www.icco.org> Acesso em: 17 ago. 2018.

LI, Y. et al. **The effect of alkalization on the bioactive and flavor related componentes in comercial cocoa poder.** Journal of Food Compositions and Anaysis. Vol. 25, p. 17-23, 2012.

LORENZI, H.; ABREU MATOS, F.J. **Plantas Medicinais no Brasil.** Inst. Plantarum, Nova Odessa, SP, p.512, 2002.

MACHADO, E. R.; **Desenvolvimento de cerveja artesanal com adição de cacau.** Dissertação de pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2017.

MATOS, R. A. G. **Cerveja: Panorama do Mercado, Produção Artesanal, e Avaliação de Aceitação e Preferência.** 2011. 78f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Agronomia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

MEGA, J.F; NEVES, E.; ANDRADE, C.J. **A produção da cerveja no Brasil.** Revista Citino, vol. 1, nº 1, out-dez 2011.

MELLO, J. R. B.; MELLO, F. B.; LANGELOH, A. **Toxicidade Pré-Clínica de Fitoterápico Contendo Aloe ferox, Quassia amara, Cynara scolymus, Gentiana lutea, Peumus boldus, Rhamnus purshiana, Solanum paniculatum e Valeriana officinalis.** Latin American Journal of Pharmacy, 2009.

NINCI, M.E. **Prophylaxis and treatment of pediculosis with Quassia amara.** Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Córdoba), v.49, p.27-31, 1991.

NIXON, K. C.; **Global and Neotropical distribution and diversity.** In: KAPPELLE, M. Ecology and conservation of Neotropical montane oak forests. Berlin: Springer Verlag, 2006. P. 483.

NUNOMURA, R. C. S.; et al. **constituintes químicos dos galhos de Simaba guianensis subesp. ecaudata** (Cronquist). Química Nova, v. 35, n. 11, p. 2153–2158, 2012.

OLIVEIRA L. C.; SOUZA S. O.; MAMEDE M. E. O. **Avaliação das características físico-químicas e colorimétricas de vinhos finos de duas principais regiões vinícolas do Brasil**. Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo, 2011.

PETROS, J. **Oak balancing act: more beer**. 2008. Disponível em: <http://morebeer.com/content/using_oak_in_beer>. Acesso em 20 ago. 2018.

PIMENTEL, A. A. **Avaliação da capacidade antioxidante e quantificação de constituintes fenólicos de nibs e chocolate de variedades clonais de cacauero**. 2016. 99 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação de Engenharia e Ciência de Alimentos, Itapetinga, 2016.

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.

PORTO, P. D. **Tecnologia de fabricação de malte: uma revisão**. 2011. 58 f. Monografia (Engenharia de Alimentos) – Departamento Acadêmico de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

PUECH, J. L. **Characteristics of oak wood and biochemical aspects of Armagnac aging**. American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v. 35, p. 77-81, 1984.

RODRIGUES, J. **Prolina**. 2013. Disponível em: <<https://www.fciencias.com/2013/10/31/prolina-molecula-da-semana/>> Acesso em: 15 jun. 2019

RONCONI C. M. **Avaliação de diferentes agentes clarificantes de cerveja no processo de produção em uma microcervejaria**. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química). Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, Criciúma, 2016.

SACHS, L. G. **Cerveja**. Fundação Faculdades "Luiz Meneghel" Bandeirantes – PR, 2001.

SANTOS, J.I; DINBAM, R; ADAMES, C. **O essencial em cervejas e destilados**. 2ª ed. rev. e amp. - São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2013.

SCHORK, M. O. **Elaboração de Cerveja Artesanal Tipo Ale com Malte de Milho e Farinha de Arroz**. Trabalho de Conclusão de Curso – Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2015.

SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. **The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 44, p. 205221, 2010.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**, vol. 1. Boca Raton, FL, USA, 2003.

SHELLHAMMER, T. H. **Beer: a quality perspective – cap. 7 beer color**. Academic Press, New York, 2011.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent**. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, p.144-158, 1965. Disponível em: <<https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>> Acesso em: 02 mai. 2019.

SPEERS, A. **Apostila: Maturation. Sibel Institute: WBA Diploma Course AME Module 2.3.1**, 1999

STEWART, G.G. E RUSSEL, I. **An Introduction to Brewing Science e Technology. Series III**. Brewer's Yeast. The Institute of Brewing, 1998.

THOMPSON, S.S., MILLER, K.B., LOPEZ, A.S. **Cocoa and coffee**. In: **Doyle, M.J., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.)**, *Food Microbiology - Fundamentals and frontiers*. ASM Press, Washington, D.C., p. 721–733, 2001.

TOCOROVIC, V. **Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia**. *Journal of Food Compositions and Analysis*. V. 41, p. 137-143, 2015.

TOMA, W. **Atividade analgésica e antiulcerogênica de quatro extratos de diferentes polaridades obtidos a partir das cascas de Quassia amara L**. Repositório da Produção Científica e Intelectual da Unicamp, 2001, Disponível em:

<<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/318125>>, Acesso em: 03 set. 2018.

TOMA, W. **Atividade analgésica e antiulcerogênica de quatro extratos de diferentes polaridades obtidos a partir das cascas de Quassia amara L.** Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 122 pp, 2001.

TOZETTO, L. M. **Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (*Zingiber officinale*).** 2017. 77 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2017.

UQ (UNIVERSITY OF QUEENSLAND). School Science lessons – **Cocoa Project**. 2017. Disponível em: <http://www.uq.edu.au/_School_Science_Lessons/55.12.GIF>. Acesso em: 17 ago. 2018.

WEI, A., MURA, K., & SHIBAMOTO, T. **Antioxidative activity of volatile chemicals extracted from beer.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 49, p.4097–4101, 2001

WILSON, T. **Produção de mel, como tudo funciona.** Disponível em:<<http://ciencia.hsw.uol.com.br/abelha6.htm>> Acesso em: 21 mai. 2019.

WOOD, G. A. R.; LASS, R. A. **Cocoa**. 4th ed. Longman Scientific and Technical: New York. 1985

ZAK, D. L; KEENEY, P. G. **Extraction and fractionation of cocoa proteins as applied to several varieties of cocoa beans.** *Journal of agriculture and food chemistry*. V.24, n. 3. 1976.