

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

GABRIEL BENATTI MONETTA

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE
FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE *OFF*
FLAVORS DA CERVEJA**

SÃO CARLOS -SP
2025

Gabriel Benatti Monetta

**AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DE
OFF FLAVORS DA CERVEJA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Departamento de
Engenharia Química da
Universidade Federal de São
Carlos.

Orientador: Adilson José da Silva

São Carlos-SP
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Folha de aprovação

Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de conclusão de curso do candidato Gabriel Benatti Monetta, realizada em 14/07/2025:

Prof. Dr. Adilson José da Silva
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dr. Adriana Paula Ferreira Palhares
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dr. Alberto Colli Badino Junior
Universidade Federal de São Carlos

AGRADECIMENTO

Primeiramente gostaria de agradecer a minha família que é meu alicerce em todas as etapas da minha vida, mas principalmente a minha mãe, Maria Cristina Benatti, que é a pessoa que me possibilitou o sonho de frequentar a universidade. Mãe, você é a pessoa que eu mais admiro e tenho respeito, por tudo o que você já fez por mim e por todos os momentos de parceria e apoio. Você conseguiu criar um filho mesmo com todas as adversidades de ser uma mãe solteira, e eu não tenho como medir palavras para te agradecer.

Além disso, gostaria de agradecer aos meus avós maternos que cuidaram de mim, auxiliando minha mãe na rotina de trabalho dela. Avós, muito obrigado por todo apoio e dedicação em me criar e em fornecer tudo o que eu mais precisava para poder concluir todas as etapas da minha vida, incluindo a tão sonhada graduação em uma universidade. Maria Aparecida e Luiz Benatti, sem vocês nada disso seria possível, obrigado por tudo.

Agradeço a todos os meus amigos que estiveram comigo durante toda a minha infância e adolescência e acompanharam todo o meu ciclo universitário. Todas as risadas, conversas, alegrias e tristezas me fizeram a pessoa que eu sou hoje e eu sou muito grato a vocês por todos os momentos que tivemos juntos.

RESUMO

A cerveja, uma das bebidas mais consumidas no mundo e no Brasil, tem uma importância econômica e social para a sociedade, pois é utilizada em vários momentos da vida do ser humano. Sendo ela produzida utilizando quatro ingredientes principais que são a cevada (malte), lúpulo, água e a levedura. Esses quatro ingredientes são a base para o processo produtivo que é dividido em duas partes, a quente e a fria. A parte quente consiste no recebimento de matéria prima, no beneficiamento e na brassagem, que é a etapa de preparação do mosto cervejeiro. A parte fria consiste na fermentação, maturação, filtração e envase. Sendo na etapa fermentativa aonde ocorrem as principais reações bioquímicas do processo, onde alguns compostos voláteis responsáveis pelo sabor e aroma da cerveja são formados e precisam ser controlados para que eles não se tornem sabores indesejados (conhecidos por *off flavors*) se estiverem em concentrações muito elevadas. Portanto este trabalho foca na etapa fermentativa do processo cervejeiro, com a coleta de trinta amostras de fermentações contendo suas faixas pré-estabelecidas para cada parâmetro operacional. A análise destes dados foi feita por gráficos de dispersão, radar e “mapa de calor” (*heatmap*) para avaliar como os parâmetros operacionais influenciam na formação dessas substâncias, utilizando o *software* Microsoft Excel®. Como resultados deste trabalho foi possível notar como que alguns parâmetros operacionais como a temperatura e a aeração impactam na formação elevada de acetaldeído e que o ajuste fino das condições de processo pré estabelecidas são uma forma de controlar a formação dos compostos voláteis e ter uma cerveja com sabor mais harmonizado, sem que eles fiquem em concentrações elevadas se tornando *off flavors*.

Palavras-chave: cerveja; fermentação; bioquímica; compostos voláteis; aroma; sabor.

ABSTRACT

Beer, one of the most consumed beverages in the world and in Brazil, holds significant economic and social importance for society, as it is consumed during various moments in people's lives. It is produced using four main ingredients: barley (malt), hops, water, and yeast. These four ingredients form the basis for the production process, which is divided into two parts: the hot and cold stages. The hot stage consists of receiving raw materials, processing, and mashing, which is the step of preparing the wort. The cold stage involves fermentation, maturation, filtration, and packaging. The fermentation stage is where the main biochemical reactions of the process occur, and some volatile compounds responsible for the flavor and aroma of the beer are formed. These compounds need to be controlled so that they do not turn into undesirable flavors (known as off-flavors) when present in high concentrations. Therefore, this work focuses on the fermentation stage of the brewing process, with the collection of thirty samples of fermentations containing their pre-established ranges for each operational parameter. The analysis of these data was performed through scatter plots, radar charts, and heatmaps to assess how the operational parameters influence the formation of these substances, using the Microsoft Excel® software. As a result of this work, it was possible to observe how some operational parameters, such as temperature and aeration, impact the elevated formation of acetaldehyde, and that fine-tuning the pre-established process conditions is a way to control the formation of volatile compounds, resulting in a more harmonized beer without them reaching high concentrations and becoming off-flavors.

Keyword: beer; fermentation; biochemistry; volatile compounds; aroma; flavor.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fluxograma simplificado da fabricação de cerveja.....	18
Figura 2: Fluxograma simplificado da etapa de Brassagem.....	27
Figura 3: Fluxograma simplificado da etapa fria do processo cervejeiro	30
Figura 4 (A): Correlação entre o teor de extrato original e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	51
Figura 4 (B): Correlação entre o teor de extrato original e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	51
Figura 4 (C): Correlação entre o teor de extrato original e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	52
Figura 4 (D): Correlação entre o teor de extrato original e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	52
Figura 5 (A): Correlação entre o pH e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	53
Figura 5 (B): Correlação entre o pH e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	54
Figura 5 (C): Correlação entre o pH e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	54
Figura 5 (D): Correlação entre o pH e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	55
Figura 6 (A): Correlação entre a TPF e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	56
Figura 6 (B): Correlação entre a TPF e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	56
Figura 6 (C): Correlação entre a TPF e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	57
Figura 6 (D): Correlação entre a TPF e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	57
Figura 7 (A): Correlação entre a TSF e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	58
Figura 7 (B): Correlação entre a TSF e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	59

Figura 7 (C): Correlação entre a TSF e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	59
Figura 7 (D): Correlação entre a TSF e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	60
Figura 8 (A): Correlação entre a contra pressão (CO ₂) e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	61
Figura 8 (B): Correlação entre a contra pressão (CO ₂) e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	61
Figura 8 (C): Correlação entre a contra pressão (CO ₂) e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	62
Figura 8 (D): Correlação entre a contra pressão (CO ₂) e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	62
Figura 9 (A): Correlação entre a aeração e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	63
Figura 9 (B): Correlação entre a aeração e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	64
Figura 9 (C): Correlação entre a aeração e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	64
Figura 9 (D): Correlação entre a aeração e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	65
Figura 10 (A): Correlação entre o FAN e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	66
Figura 10 (B): Correlação entre o FAN e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	66
Figura 10 (C): Correlação entre o FAN e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	67
Figura 10 (D): Correlação entre o FAN e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	67
Figura 11 (A): Correlação entre a DF e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	68
Figura 11 (B): Correlação entre a DF e o acetato de etila na fermentação das cervejas.....	69

Figura 11 (C): Correlação entre a DF e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	69
Figura 11 (D): Correlação entre a DF e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.....	70
Figura 12 (A): Correlações entre o acetato de etila e o acetaldeído na fermentação das cervejas.....	71
Figura 12 (B): Correlações entre o acetato de etila e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	71
Figura 12 (C): Correlações entre o acetaldeído e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.....	72
Figura 13 (A): Comparação entre fermentações que apresentaram um perfil sensorial mais adequado (BOA).....	74
Figura 13 (B): Comparação entre fermentações que apresentaram um perfil sensorial menos adequado (RUIM).....	75
Figura 14 (A): <i>Heatmap</i> para a correlação entre as variáveis do processo e a formação dos voláteis.....	76
Figura 14 (B): Escalas de cor do gráfico <i>Heatmap</i>	77

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Condições de processo das coletadas.....	48
Quadro 2: Quantificação dos compostos voláteis formados nas respectivas fermentações.....	49
Quadro 3: Condições de processo coletadas normalizadas.....	73
Quadro 4: Faixas de operação revisadas para se obter um perfil sensorial desejado	78

LISTA DE SIGLAS

EO – Extrato original.

TPF – Temperatura de primeira fase.

TSF – Temperatura de segunda fase.

CP – Contra pressão.

AR – Aeração.

FAN – *Free amino nitrogen* (Nitrogênio amino livre).

DF – Dosagem de fermento.

CO₂ – Dióxido de carbono (gás carbônico).

SO₂ – Dióxido de enxofre.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 HISTÓRIA DA CERVEJA E CONTEXTO ATUAL.....	15
2.2 ESQUEMA GERAL DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA.....	17
2.3 INGREDIENTES	18
2.3.2 Lúpulo.....	19
2.3.3 Água	20
2.3.4 Levedura.....	21
2.4 MALTEAÇÃO.....	22
2.5 BRASSAGEM	24
2.6 FERMENTAÇÃO.....	27
2.6.1 Monitoramento e controle da fermentação	30
2.6.1.1 Monitoramento da Redução de Extrato	30
2.6.1.2 Monitoramento de Dicetonas Vicinais.....	30
2.6.1.3 Monitoramento da Temperatura	31
2.6.2 Estoque e Dosagem de Fermento	31
2.7 METABOLISMO DA LEVEDURA NO PROCESSO CERVEJEIRO	32
2.7.1 Respiração Aeróbia	32
2.7.2 Fermentação Alcoólica.....	33
2.7.3 Consumo de Carboidratos pela Levedura	34
2.7.4 Consumo de Compostos Nitrogenados.....	35
2.7.5 Consumo de Lipídeos e Oxigênio	36
2.7.6 Consumo de Íons Metálicos	36
2.7.7 Formação de Carboidratos de Reserva	37
2.7.8 Síntese de Esteróis e Ácidos Graxos	38
2.7.9 Formação do Perfil Sensorial	39
2.7.9.1 Ácidos Orgânicos.....	39
2.7.9.2 Alcoóis Superiores.....	40
2.7.9.3 Ésteres	41
2.7.9.4 Aldeídos.....	41
2.7.9.5 Dicetonas Vicinais.....	42
2.7.9.6 Dióxido de Enxofre.....	44
3.1 CONDIÇÕES DE PROCESSO E COMPOSTOS VOLÁTEIS ANALISADOS.....	45

3.2 ANÁLISES GRÁFICAS.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1 EFEITO DO EXTRATO ORIGINAL (°P)	50
4.2 EFEITO DO pH	53
4.3 EFEITO DA TEMPERATURA DE 1ª FASE	55
4.4 EFEITO DA TEMPERATURA DE 2ª FASE	58
4.5 EFEITO DA CONTRA PRESSÃO	60
4.6 EFEITO DA AERAÇÃO	63
4.7 EFEITO DO FAN.....	65
4.8 EFEITO DA DOSAGEM DE FERMENTO.....	68
4.9 CORRELAÇÕES ENTRE A PRODUÇÃO DOS DIFERENTES VOLÁTEIS	71
4.10 COMPARAÇÃO CONJUNTA DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO.....	72
5. CONCLUSÃO.....	79
6. REFERÊNCIAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

A cerveja, uma das bebidas mais antigas da humanidade, também é uma das mais famosas e mais consumidas no mundo, sendo que no Brasil 61% dos brasileiros acima de 18 anos consomem cerveja e quase um terço (32,8%) consome a bebida por pelo menos uma vez durante a semana (G1, 2024). Isso faz o país ocupar o terceiro lugar no ranking dos países que mais consomem cerveja no mundo, com cerca de 14,932 milhões de m³, representando 7,8% do consumo mundial (ESTADÃO, 2024).

No Brasil, a cerveja é uma bebida que faz parte da cultura da população, consumida principalmente em datas comemorativas, como o carnaval, e utilizada principalmente em momentos de celebração. Porém, para que a bebida realmente seja considerada como cerveja no país é necessário que ela cumpra os requisitos da Lei nº 8.918, que regulamenta que a bebida precisa conter água, malte de cevada (podendo conter outros cereais, mas o malte de cevada é obrigatório), lúpulo (ou derivados) e levedura. Isso garante a padronização, a classificação, a inspeção e a fiscalização da produção de bebidas fermentadas (BRASIL, 2009).

Além disso, com a grande variedade de marcas e diferentes cervejas disponíveis no mercado, notou-se que o consumidor está cada vez mais buscando por produtos de qualidade, fugindo de marcas tradicionais e se preocupando com o sensorial da cerveja, que varia de acordo com o estilo de cada cerveja (G1, 2024). Os tipos mais comuns de cerveja são as Pilsens, American Lagers, Weissbier, IPA, Stout e Porter. Cada uma delas varia de acordo com seus ingredientes (variados grãos, tipos de leveduras, tipos de lúpulos), com sua cor, com seu aroma, com sua leveza e sabor, sendo que estes sabores muitas vezes provêm de compostos voláteis (ésteres, aldeídos, compostos sulfurados) que são principalmente formados na etapa de fermentação da cerveja, e podem ser influenciados por diversos parâmetros operacionais como pressão e temperatura.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi utilizar dados de fabricação da cerveja em escala industrial, especificamente da etapa de fermentação, para analisar como o conjunto de parâmetros monitorados nesta etapa do processo cervejeiro pode influenciar na formação de compostos voláteis de acordo com o

estilo da cerveja. Se esses compostos estiverem muito acumulados na cerveja, eles podem se tornar sabores indesejados, conhecidos popularmente no universo cervejeiro como *off flavors*.

E por fim, a partir desta análise, buscou-se identificar quais são as melhores condições operacionais durante a fermentação para se produzir uma cerveja com a característica sensorial escolhida.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 HISTÓRIA DA CERVEJA E CONTEXTO ATUAL

Durante a evolução da humanidade, as fontes de líquido sempre foram fundamentais, levando o ser humano a experimentar diversos tipos e fontes de água partindo do princípio básico de matar a sede e, que depois, foi evoluindo para a descoberta de mais sabores, principalmente quando outras fontes de líquidos passaram a ser utilizadas, como leite e caldo de frutas (STANDAGE, 2005).

Ao longo da evolução, grupos com características nômades tiveram o primeiro contato com bebidas fermentadas contendo álcool de diversas origens, como frutas em decomposição, tâmaras, cactos e seiva de árvores locais. Em áreas mais quentes, já era comum o plantio de tamareiras, assim como a utilização da seiva de algumas espécies de palmeiras para a alimentação, da mesma forma que em países de clima mais frio e temperado também utilizassem o recurso da seiva como alimentação, porém proveniente de outras árvores típicas da região (STANDAGE, 2005).

Já os cereais selvagens, abundantes em diversas regiões, eram fontes de alimento muito confiáveis devido ao seu fácil armazenamento e manuseio, já que por meio de processos simples era possível fazer farinhas diversas, mingaus e até mesmo biscoitos. Dessa forma, sugere-se que as primeiras cervejas surgiram de forma espontânea, já que a conservação destes cereais em ambientes úmidos pode ter levado a uma fermentação natural, sendo que esse acontecimento pode ter ocorrido em diferentes regiões do planeta com diversos tipos de grãos, em épocas não muito distantes. Dentre todas estas origens do que viria a ser a cerveja, destaca-se a bebida da região da Mesopotâmia e do Egito, que possui a maior quantidade de registros encontrados (MCGOVERN, 2009).

A Mesopotâmia, região que atualmente ocupa os territórios da Síria, Turquia e Iraque, ficava entre os rios Tigres e Eufrates e tinha em abundância trigo e cevada como os principais componentes da sua alimentação, o que favoreceu a produção cervejeira. Neste local existem diversas evidências históricas que mostram que o homem colhia, malteava, triturava e usava os

grãos na produção da bebida fermentada, comprovada por evidências cerâmicas com vestígios de bebidas feitas de cevada (cerca de 4000 a.C.), podendo-se estimar que as primeiras cervejas propriamente ditas tenham origem nesta época (STANDAGE, 2005).

Com o advento da escrita na Mesopotâmia, surgiram relatos escritos sobre a cerveja, principalmente em documentos da época, referenciando o pagamento e recibos de impostos. Esses documentos vinham a ser uma espécie de “ficha de contabilidade” que continham os valores dos principais ingredientes utilizados, como grãos (cevada e trigo), pães, animais e materiais têxteis. E com o tempo, estes documentos foram evoluindo para placas de barro ou argila, contendo o selo de assinatura do recebedor e do pagante (STANDAGE, 2005).

Para fabricar o produto, um cervejeiro primitivo precisava de uma fonte de água potável, uma fonte de grãos (muito abundante na região), um instrumento de moagem dos grãos, um recipiente para misturar a água e os cereais para formar o que conhecemos atualmente como mosto primário, uma fonte de calor estável, um novo recipiente para armazenar essa mistura e uma fonte de leveduras. Como exemplo de fonte de levedura pode citar-se o vinho de tâmaras, mel, frutas maceradas ou, com o passar do tempo, a própria massa de levedo resultante de uma fermentação anterior (STANDAGE, 2005).

A civilização egípcia apresenta um caso semelhante a civilização mesopotâmica, visto que a bebida estava intrinsecamente ligada à cultura e ao modo de vida local segundo fontes documentais datadas (cerca de 2700 a.C.). Isso se comprova com inscrições funerárias encontradas em pirâmides assim como trabalho feitos em papiro. Uma semelhança entre as regiões era que se pensava que a cerveja tinha origens antigas e mitológicas, devido ao fato de seu surgimento ter sido feito de maneira espontânea (MCGOVERN, 2009).

Ambas as civilizações tinham a cerveja como uma bebida divina e tradicional, parte da cultura e da religião, e de grande importância social. A cerveja era, nas duas culturas, parte integrante das refeições cotidianas e das festas. Consumida por ricos, pobres, homens e mulheres, adultos e crianças, desde o topo até a base da pirâmide social. Esse consumo foi um impulso da transição das sociedades nômades para a criação de civilizações sedentárias, pois incentivou a prática agrícola do plantio dos cereais necessários para a fabricação da cerveja e ajudou na estruturação das primeiras organizações

econômicas e religiosas (MCGOVERN, 2009).

Dessa forma, com o passar dos anos, a cerveja foi se difundindo, iniciando sua trajetória pelo continente europeu, onde ganhou muita força na cultura alemã e que posteriormente se tornou uma bebida consumida mundialmente, dando origem a diversos tipos de cervejas com diferentes sabores e aromas. E com isso, o processo de fabricação de cerveja se tornou algo semelhante a arte, pois podem ser utilizados uma variedade muito grande de cereais, lúpulos, frutas, de acordo com o gosto do cervejeiro, trazendo uma gama muito grande de produtos para o consumidor (MCGOVERN, 2009).

2.2 ESQUEMA GERAL DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA

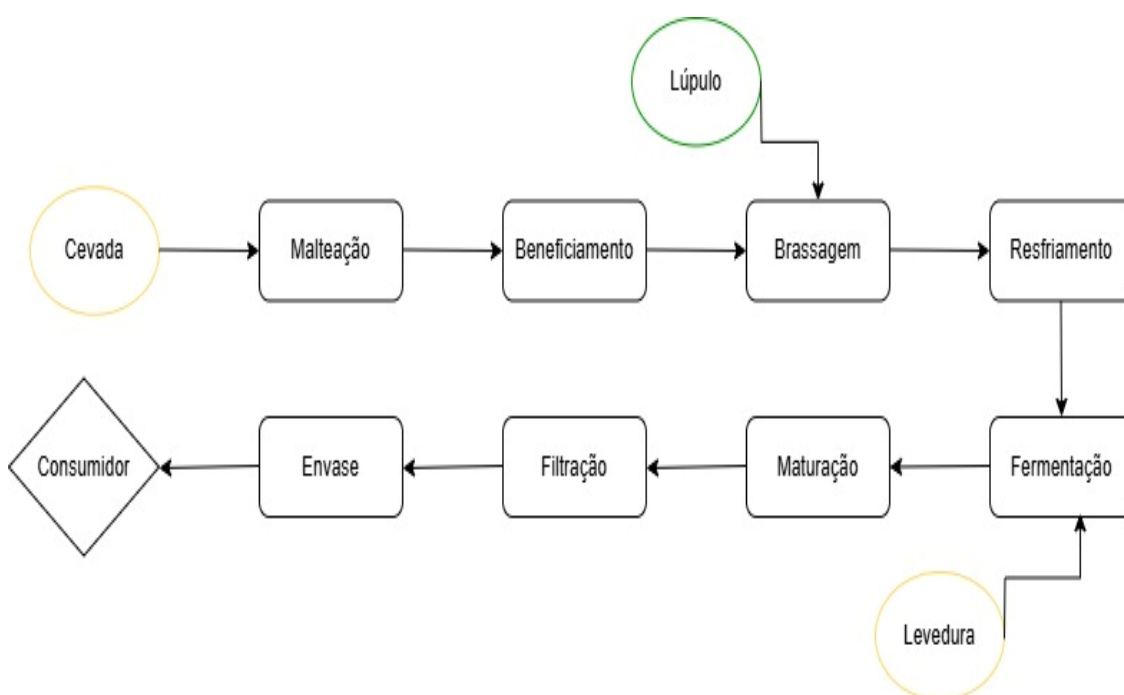
Atualmente, a fabricação da cerveja é majoritariamente segmentada em duas partes diferentes, a quente e a fria, pois a primeira metade é feita sob temperaturas mais elevadas, enquanto a outra metade é feita sob temperaturas mais frias, fundamental para que a fermentação e a maturação ocorram de forma correta. Tudo se inicia na seleção dos ingredientes, que podem variar de acordo com a cerveja escolhida, mas os principais como malte (cevada após o processo de malteação), lúpulo, levedura e água são fundamentais e precisam ser armazenados corretamente: o malte deve ser deixado em silos específicos para este grão, o lúpulo deve ser mantido em câmaras frias mantidas a cerca de 5 °C e a levedura precisa passar pelo processo de inoculação e propagação para ser mantida nas tinas de fermento (BAMFORTH, 2017).

O malte ao ser retirado dos silos precisa passar por um beneficiamento, para retirar possíveis rejeitos maiores, como pedras, metais e outras sujidades, além do pó e palha, sendo que todos estes dejetos não podem entrar na etapa de brassagem. Nesta etapa, o malte já moído na etapa de beneficiamento se mistura com a água para formar o mosto cervejeiro, em temperaturas elevadas, para que todos os açúcares presentes no grão sejam liberados e estejam disponíveis para a levedura transformar estes açúcares em álcool e gás carbônico. Ressalta-se que antes do mosto entrar no fermentador, é preciso que ele seja resfriado até chegar a uma temperatura entre 8 a 9 °C para que a fermentação possa acontecer (BAMFORTH, 2017).

Ao finalizar a fermentação, a cerveja passa por uma centrifugação onde

o fermento é retirado e é mandado de volta para as tinas e o líquido segue para a maturação, onde é mantido em temperaturas de -1 a -2 °C, permitindo que todas as partículas de fermento restantes se aglomerem e decantem no fundo do maturador, de forma que cada cerveja possui um tempo de maturação específico variando de acordo com o tipo. Por fim, o líquido segue para a etapa final de filtração, retirando toda a turbidez para que ela possa ser envasada e enviada para o consumidor final (BAMFORTH, 2017).

Figura 1: Fluxograma simplificado da fabricação de cerveja.



Fonte: Adaptado - BAMFORTH, C. W. *Beer: Tap into the Art and Science of Brewing*. 3, 2017.

2.3 INGREDIENTES

2.3.1 Cevada

Dentre todos os cereais, a cevada tem as melhores características cervejeiras, apesar de também ser usada para a fabricação de alimentação animal e humana. De acordo com a época de semeadura, o ciclo da cevada leva entre 130 e 150 dias para se completar. No Brasil, a semeadura ocorre entre maio e junho e a colheita nos meses de outubro a novembro. Na Europa e

Estados Unidos, a cevada de inverno é plantada no outono nos meses de outubro a novembro e a cevada de primavera é semeada entre os meses de março e abril (EMBRAPA, 2023).

Os tipos de cevada mais comuns para produção cervejeira são a cevadas de duas fileiras e, mais raramente, a cevada de seis fileiras. Há muitas variedades de cada tipo, mas de forma geral as características da cevada de duas fileiras são muito similares entre si e o mesmo ocorre entre as de seis fileiras. No entanto, as diferentes características entre as variedades de 2 e 6 fileiras são muito importantes no mundo cervejeiro (BAMFORTH, 2017), sendo que a cevada de duas fileiras é mais utilizada por ser maior e mais uniforme, além de ter um menor teor de proteínas e um maior teor de amido, o que garante mais açúcares para a etapa fermentativa.

O grão da cevada é composto principalmente pela casca, camada de aleurona, endosperma, escutelo e embrião. Cada uma destas partes apresenta função essencial no desenvolvimento do grão e também na fabricação de cerveja. O embrião e a aleurona são considerados tecidos vivos do grão. Já o endosperma é tido como a reserva energética. Dessa forma, um bom cereal para uso cervejeiro deve ser fonte de amido e enzimas para a formação de açúcares fermentescíveis e para a conversão de proteínas em aminoácidos (KUNZE, 2014).

O teor de proteína deve ser moderado e teor de lipídeos e polifenóis deve ser baixo. O cereal escolhido deve contribuir diretamente para a formação de cor e sabores da cerveja e, além disso, ser tecnicamente capaz de servir como material filtrante de mosto, especialmente no uso de filtro prensa (BAMFORTH, 2017).

2.3.2 Lúpulo

Os quatro principais países produtores de lúpulo são Alemanha, EUA, República Tcheca e China. As regiões tradicionais na produção do lúpulo são a Europa Central e do Leste, Estados Unidos e Inglaterra. Boas quantidades também são produzidas na Ásia e, e em menor extensão, no hemisfério sul, na Austrália, Nova Zelândia, África do Sul e América do Sul (SPÓSITO, 2019).

Essa planta possui algumas variedades, sendo as principais a de amargor e a de aroma, de forma que cada uma apresenta uma composição química diferente, relevante em diferentes momentos da produção de cerveja (FLORÊNCIO, 2022). Com isso, sua utilização se dá devido aos seus compostos químicos, sendo que os mais significativos são os alfa-ácidos, beta-ácidos, óleos essenciais e, em menor escala, os polifenóis. Além disso, o lúpulo ajuda na estabilização microbiológica, devido as suas propriedades bactericidas, na estabilidade da espuma, pela presença dos alfa-ácidos, e na estabilidade a oxidação, pela presença de polifenóis (HIERONYMUS, 2020).

Isso permite que, ao depender do momento da ebulição em que ele é adicionado, ele confira à cerveja algumas características sensoriais, como aromas herbais, florais, frutados e ou amadeirados. Por exemplo, se forem adicionados no meio da fervura eles geram aromas mais herbais já que alguns compostos voláteis são evaporados; agora se forem adicionados mais ao final da fervura, eles geram aromas mais florais e frutados, já que os compostos voláteis presentes conseguem ser preservados neste período menor de ebulição do mosto (HIERONYMUS, 2020).

2.3.3 Água

A água é o recurso mais usado no processo cervejeiro. Não só compõe a maioria do produto final, mas grandes quantidades dele também suportam várias etapas adjacentes. Assim, a disponibilidade de água em quantidades suficientes para suportar a produção é uma consideração importante ao se decidir fabricar cerveja, pois ela compreende 90 a 95% de volume do produto final, e também é utilizada para outros fins do processo (PUNČOCHÁŘOVÁ, 2019).

Este recurso está diretamente ligado à produção de vapor (fundamental para o aquecimento dos equipamentos que necessitam uma temperatura mais elevada), ao resfriamento por meio de trocadores de calor, e a assepsia do processo, que utiliza tanto o vapor quanto água quente para esterilizar e limpar tubulações. Além disso, o recurso mais valioso é a água desaerada, que não contém oxigênio, e é utilizada intrinsecamente na fabricação da cerveja, visto que essa água evita a oxidação do produto, dando a ele um maior tempo de validade, o que é muito importante para o consumidor (PALMER; KAMINSKI, 2013).

Além disso, algumas características físico-químicas da água, como a dureza (presença de íons de magnésio e cálcio), são importantes para a influência no sabor e ação enzimática, assim como sua alcalinidade, que deve ter um pH entre 6,5 a 7,5 antes da mosturação (PALMER; KAMINSKI, 2013). Com isso a água utilizada precisa passar por tratamentos, que envolvem a filtração, desmineralização e a correção dos sais minerais dependendo da região onde a água é coletada, para que ela possa devidamente ser usada no processo (PUNČOCHÁŘOVÁ, 2019).

2.3.4 Levedura

As leveduras são empregadas na produção de bebidas fermentadas há milhares de anos, mas apenas no início dos anos 1800 foi proposta a existência de um organismo microscópico como responsável pela fermentação alcoólica. Em 1860, Louis Pasteur provou esta teoria. Ele descobriu que o fermento, um único microrganismo celular, converte açúcares em álcool etílico e gás carbônico (WALKER, 2000).

Estes organismos eram originariamente isolados a partir de matérias primas vegetais e passaram por todo um processo de seleção em busca da cepa com o comportamento ideal para conduzir a fermentação, capaz de reproduzir esse perfil metabólico em variadas condições e garantir a qualidade da cerveja. As leveduras cervejeiras pertencem ao reino *Fungi*, que abrange cerca de 100 mil espécies (STEWART; PRIEST, 2006).

As leveduras do gênero *Saccharomyces* são bastante exploradas comercialmente. A *S. cerevisiae*, por exemplo, contribui com os maiores processos industriais baseados em levedura que são a produção de etanol, bebidas alcoólicas (vinho e cerveja), a panificação, a fabricação de biomassa, autolisados e aromas (EBLINGER, 2009).

As leveduras são um dos poucos organismos que podem crescer em um ambiente aeróbio (com oxigênio) ou anaeróbio (sem oxigênio). Como tal, suas estruturas internas, como as mitocôndrias, devem ser adaptáveis a ambos os ambientes (EBLINGER, 2009).

A maior parte da indústria usa a nomenclatura *Saccharomyces cerevisiae* de alta fermentação ou de baixa fermentação. Tradicionalmente, as cervejas de

alta fermentação são conhecidas como *Ale*, provenientes de leveduras que não decantam, ou seja, flutam na superfície da cerveja no final de fermentação. As temperaturas de fermentação são mais elevadas 15 a 25°C, com tempos de fermentação de 3 a 4 dias (KUNZE, 2014).

Já as cervejas de baixa fermentação são conhecidas como *Lager*, provenientes de leveduras que decantam, floculando no final de fermentação. As temperaturas de fermentação são de 8 a 17°C, para se evitar uma fermentação muito ativa, com tempos de fermentação entre 5 a 8 dias (KUNZE, 2014).

Ao longo do tempo, as mudanças no processo cervejeiro acabaram com alguns conceitos usados na diferenciação entre cepas *Ale* e *Lager*, como a sedimentação ou a flutuação da levedura ao final da fermentação. O uso de tanques cilindro-cônicos e a seleção progressiva das leveduras fizeram com que diversas cepas de “alta fermentação” passassem a sedimentar no fundo dos tanques, de modo similar às cepas de “baixa fermentação” (KUNZE, 2014).

2.4 MALTEAÇÃO

O malteio é um processo biológico que precisa promover somente as alterações básicas de metabolismo da cevada, realizando a “solubilização do grão”, de forma que seja feita a decomposição parcial do amido e das proteínas. Assim, a malteação tem como objetivo ativar as enzimas já existentes ou produzir outras enzimas, para transformar moléculas de alta massa molecular, insolúveis em água, em subprodutos com massa molecular menor, solúveis em água, e formar os principais componentes que dão aroma, cor e sabor para o produto final (BETTENHAUSEN, 2018). A cor é uma combinação da própria cor do malte com os efeitos de fabricação das etapas quentes, onde os aminoácidos e açúcares provenientes do malte passam por reações bioquímicas (MALLETT, 2021).

Outra função importante do malte é o uso da casca como meio filtrante durante a clarificação do mosto, especialmente em processos realizados em tinas de mostura. A cevada se destaca entre os grãos justamente por conservar sua casca mesmo após as etapas de colheita e malteação (MALLETT, 2021). Dessa característica, associada às condições específicas de malteação, compostas por maceração, germinação e secagem, é possível produzir

diferentes tipos de malte a partir da variedade de cevada selecionada (SHIBAO; BASTOS, 2021).

A maceração é a etapa em que o grão deve ser umedecido da forma mais homogênea possível. O teor de umidade final depende do tamanho do grão, do conteúdo proteico e do estado fisiológico da cevada. As diferentes variedades apresentam exigências específicas quanto à umidade necessária para a germinação. De modo geral, a maioria dos tipos de cevada não germina com menos de 30% de umidade, sendo que os valores ideais costumam variar entre 42% e 46%. No entanto, algumas variedades podem exigir níveis próximos a 50%, dependendo do teor de proteínas e da capacidade de absorção de água pelo endosperma (MALLETT, 2021).

A germinação é a etapa onde as enzimas necessárias para o uso do malte na fabricação de cerveja são ativadas ou produzidas, como a alfa-amilase, proteases, peptidases e glucanases. E também é a etapa em que o grão passa por uma modificação estrutural parcial devido a essas enzimas, pois a parede celular das células do endosperma e a matriz estrutural das proteínas são significativamente degradadas (MALLETT, 2021). Isso ocorre porque o grão tenta se desenvolver como planta, porém o controle das condições operacionais são fundamentais para garantir que a degradação do endosperma seja a menor possível. Para tal, é necessário controlar a umidade do grão, o fornecimento de oxigênio e a retirada de gás carbônico formado, seguido da eliminação do calor proveniente da respiração celular (SHIBAO; BASTOS, 2021).

A secagem é a última etapa da malteação e tem o objetivo de aquecer a cevada germinada para não permitir o crescimento do embrião e fixar o conteúdo químico do malte. Durante a secagem, a umidade do malte é reduzida para menos de 5%. Isso é possível com a passagem de grande quantidade de ar aquecido pela camada de grãos em instalações especiais, as câmaras de secagem (MALLETT, 2021).

Os principais fenômenos que ocorrem durante essa etapa são a interrupção da atividade enzimática do grão pela redução da umidade, a preservação de quantidades adequadas de enzimas para a etapa de brassagem e o desenvolvimento de características desejáveis de cor e aroma. Em temperaturas acima de 80°C, diversas substâncias de baixa massa molecular, formadas pela degradação enzimática, reagem entre si, originando compostos

que contribuem para a formação da cor e para a liberação de aromas específicos (SHIBAO; BASTOS, 2021).

2.5 BRASSAGEM

Nesta etapa ocorre a formação do mosto, onde o amido proveniente do malte passará por reações bioquímicas transformando este açúcar de cadeia longa em açúcares menores (fermentescíveis) que serão consumidos na fermentação, enquanto os açúcares não fermentescíveis irão garantir o corpo da cerveja. Essa etapa é feita em cinco passos, sendo eles a mosturação, filtração, fervura, decantação e resfriamento (KUNZE, 2014).

Alguns adjuntos são adicionados ao mosto para conferir estabilidade e para a ativação enzimática, dentre eles enzimas exógenas como a alfa-amilase e a beta-amilase que auxiliam na transformação do amido, e também a beta-glucanase responsável pela quebra de glucanos, ajudando a reduzir a viscosidade e auxiliando na filtrabilidade. Cloreto de cálcio e ácido fosfórico também são colocados principalmente para auxiliarem na estabilidade da solução (correção de pH) e na ativação enzimática, tendo reflexo no rendimento da formação do extrato original (FLORÊNCIO, 2022).

A Mosturação é onde ocorre a preparação do mosto nas tinas de mostura, nas quais são adicionados água quente, malte moído e outros cereais de acordo com a cerveja escolhida. Os parâmetros tempo e temperatura da mosturação são representados pela curva que contém aumentos de temperatura e repousos (intervalo de tempo em que a temperatura fica constante). O primeiro repouso ocorre em uma temperatura ótima (aproximadamente 49° C) para ação de enzimas proteolíticas, ou seja, que atuam na decomposição de compostos de alta massa molecular em aminoácidos, sendo que o resultado deste repouso tem influência direta no FAN e na espuma do produto acabado. Além disso, no primeiro repouso há o início da quebra dos beta-glucanos, os quais estão presentes no malte e são caracterizados como amidos formados por longas cadeias de glicose (FLORÊNCIO, 2022).

Já o segundo repouso (temperatura entre 60° e 65°C) permite a ação das enzimas beta-amilases, proporcionando a formação de açúcares mais simples (fermentescíveis), como a maltose, glicose, frutose e a maltotriose. O terceiro

repouso (temperatura entre 72° e 75°C) faz com que as alfa-amilases atuem na formação de dextrinas, ou seja, açúcares não fermentescíveis, que garantirão o corpo da cerveja. Para ter certeza que a sacarificação ocorreu completamente, realiza-se o teste de iodo, que deve ser negativo, permanecendo com a coloração amarelada. Por fim o mosto é elevado a temperaturas superiores a 76°C para que ocorra inativação enzimática (KUNZE, 2014).

A filtração tem como meta separar as substâncias solubilizadas na mostura dos remanescentes insolúveis retidos no bagaço. O equipamento responsável pela filtração é o filtro prensa, constituído de placas, as quais quando são fechadas formam dutos para entrada e saída de mosto e água de lavagem e na região central das placas há uma tela de polipropileno. O filtrante será formado pelo próprio bagaço retido nesta tela, formando a torta de filtração. A primeira parte filtrada é conhecida como mosto primário, que ao encher o filtro é direcionado para o tanque de equilíbrio que controla o fluxo do filtro (EBLINGER, 2009).

Em seguida, realiza-se a lavagem do bagaço com água a aproximadamente 76°C e pH inferior ou igual a 7. A água utilizada na lavagem é recuperada e retorna para a tina de mostura. A transferência mecânica da mostura da tina para o filtro, que envolve o bombeamento e a abertura sequenciada de válvulas, requer um controle rigoroso para evitar a incorporação de oxigênio. O ajuste da vazão e da pressão durante essa etapa é essencial para assegurar o tempo adequado de filtração e uma extração eficiente. O mosto filtrado é então direcionado a um tanque de armazenamento, enquanto o filtro é aberto, permitindo o deslocamento das placas e a queda do bagaço no cocho, que pode ser posteriormente destinado à alimentação animal (FLORÊNCIO, 2022).

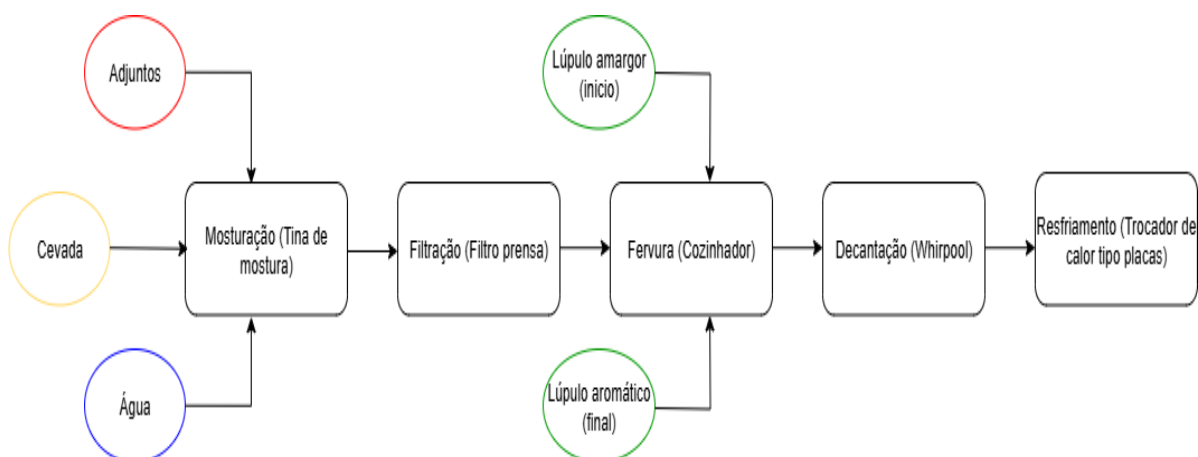
Dando sequência ao processo, a fervura é a parte em que o mosto que sai do tanque de armazenamento com temperatura próxima de 76°C é enviado para o cozinhador. Nesta etapa são adicionados os lúpulos aromáticos e de amargor, ácido fosfórico e cloreto de cálcio. A quantidade de lúpulo dosado é calculada conforme o perfil de amargor da cerveja a ser produzida, de forma a respeitar a ordem de adição dos lúpulos, já que a dosagem de lúpulo amargor deve ser feita 10 minutos após o início da fervura, enquanto a dosagem de lúpulo aromático deve ser adicionada 20 minutos antes do final da fervura. É durante o

cozimento que ocorre a isomerização dos alfa-ácidos presentes no lúpulo, coagulação das proteínas, concentração e esterilização do mosto, inativação das proteínas, diminuição do pH e formação de compostos colorantes e aromáticos, provenientes da reação de *Maillard*. Ocorre também a eliminação de compostos indesejáveis, como os aromas sulfídricos a partir da evaporação do mosto (FLORÊNCIO, 2022).

Seguindo para a decantação, o mosto ao sair do cozinhador passa por um hidrociclone, conhecido como *whirlpool*, equipamento responsável pela decantação do *trub* quente através da força centrípeta em que basicamente as partículas mais pesadas são depositadas no fundo levemente cônico. O *trub* é um composto formado a partir da proteína coagulada que se adere às partículas de lúpulo formando flocos grandes, de modo a facilitar a separação. A retirada do *trub* quente é muito importante pois, se houver arraste do mesmo, este pode vir a interferir na eficiência do processo fermentativo e conferir adstringência à cerveja (KUNZE, 2014).

Por fim, o mosto passa por um trocador de calor do tipo placas, em que é resfriado com água gelada (2,5-3,5 °C) saindo com temperaturas entre 8,0 e 10,0 °C e a água quente produzida é reutilizada em partes adjacentes. Uma eficiente troca de calor é medida pela relação do volume água gelada utilizada pelo volume de mosto resfriado, sendo esse valor no máximo 1,1 para ser eficiente. Além disso, durante o envio de mosto, ocorre a aeração dele, em que ar estéril se dilui no mosto através de uma tubulação, garantindo melhores condições para formação celular do fermento (FLORÊNCIO, 2022). A Figura 2 ilustra de forma simplificada as etapas da Brassagem.

Figura 2: Fluxograma simplificado da etapa de Brassagem.



Fonte: Adaptado - KUNZE, W. *Technology brewing and malting*. 5. ed. Berlin: VLB Berlin, 2014.

2.6 FERMENTAÇÃO

A fermentação é subdividida em 6 etapas: enchimento, elevação para a primeira fase, primeira fase, elevação para a segunda fase, segunda fase e centrifugação. No enchimento é quando o mosto proveniente da brassagem é mandado para os tanques fermentadores, ocorrendo simultaneamente a dosagem de fermento e a dosagem de alguns produtos, como o antiespumante, responsável por não deixar que ocorra a formação de espuma durante esta etapa. Os tanques são cilíndricos de fundo cônico, encamisados e refrigerados através de etanol ao longo de sua altura, com válvulas direcionais e moduladoras para manutenção da temperatura. O controle de pressão é feito através de uma válvula, que apenas abre para liberação de CO₂ se certa pressão escolhida é alcançada (EBLINGER, 2009).

A etapa seguinte acontece após 10 a 12 horas do enchimento, já que o próprio metabolismo do microrganismo irá promover uma elevação da temperatura do fermentador, variando de acordo com a temperatura do resfriamento do mosto, atingindo a primeira fase. Em seguida, esse período tem duração de 48 horas e temperatura entre 10,5 e 11,5 °C, deixando a fermentação mais lenta devido à baixa temperatura. Na primeira parcela da primeira fase, a atenuação de extrato (consumo de açúcares fermentescíveis) é ainda discreta e

o pH cai em torno de 0,25 a 0,30. É nessa etapa inicial também que a multiplicação celular da levedura fica mais evidente, já que o fermento está em sua fase exponencial ou log. Mas, assim que a disponibilidade de oxigênio diminui, a rota anaeróbia é favorecida e a formação de CO₂ torna-se mais evidente (KUNZE, 2014).

Quando o processo atinge o segundo dia, a fermentação se intensifica, e o extrato decai de forma mais acentuada tal qual o pH de 0,6 a 0,8. Além disso, também ocorre a primeira purga do tanque para retirada do *trub* frio com 24 horas. O não cumprimento deste procedimento pode levar a elevação da temperatura do tanque criando correntes de convecção que espalharão o *trub* por todo o tanque. O *trub* em suspensão provoca o engorduramento e obstrução da parede celular da levedura dificultando a assimilação dos açúcares e nutrientes externos para o interior da célula, o que ao decorrer das próximas etapas pode comprometer a clarificação (queda de turbidez) da cerveja (STEWART; PRIEST, 2006).

Passadas 48 horas, é feita a elevação para a segunda fase que deve durar aproximadamente 24 horas, elevando a temperatura do tanque a uma faixa entre 15 a 18 °C, sendo que esse aumento de temperatura não ocorre de forma natural, sendo necessário um aumento provocado. O momento da elevação para a segunda fase deve ocorrer preferencialmente após a formação do pico de dicetonas vicinais, de forma a acelerar essa reação (STEWART; PRIEST, 2006).

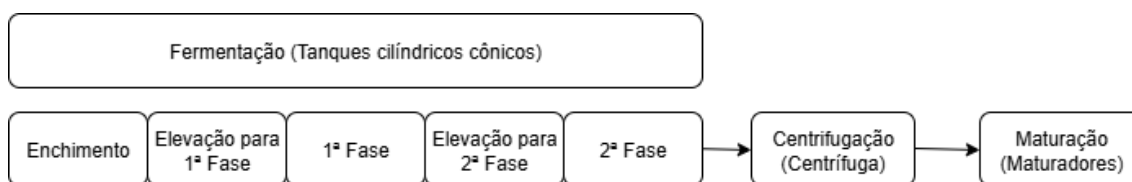
Na segunda fase de fermentação a cerveja encontra-se a uma temperatura mais elevada, o que favorece o aumento da velocidade da atenuação do extrato ainda presente no fermentador. O pH atinge seu limite em torno de 4,0 a 4,4, o CO₂ está em sua formação máxima e uma camada de espuma, também chamada de *kräuser*, pode atingir alturas de até 30 cm. A essa temperatura o diacetil é mais rapidamente consumido pela levedura chegando a uma concentração de 100 ppb, marcando o fim do processo fermentativo e a liberação para o prosseguimento para a etapa seguinte (EBLINGER, 2009).

Quando os parâmetros necessários são atingidos, inicia-se a centrifugação do líquido, separando o fermento. A centrifugação faz com que o material mais denso se acumule no tambor da centrífuga até um limite máximo antes de ser eliminado, pois a remoção desse material ocorre através do deslocamento, que varia entre dois tipos: por tempo (segurança da máquina) ou

auto comando. O fermentador a ser centrifugado precisa de ar comprimido no momento da transferência, para evitar a formação de vácuo no tanque. Como o dióxido de carbono é mais denso, forma-se uma camada que protege a cerveja do contato com oxigênio. Dessa forma a cerveja clarificada é resfriada por um trocador de calor a placas resfriado com etanol à $-1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e é enviada para um tanque maturador, sendo que a quantidade de oxigênio na cerveja centrifugada não deve ultrapassar 12 ppb (KUNZE, 2014).

Ao ser centrifugada, a cerveja é enviada para os maturadores, onde permanecerão por no mínimo dois dias e no máximo dez. O objetivo principal do período de maturação é sedimentação do fermento e outras partículas amorfas, de forma a garantir a estabilidade coloidal e redução da turbidez além do arredondamento dos sabores e aromas da cerveja. Durante esse período de maturação, ocorre a retirada de *Gellager*, que nada mais é que resíduo de fermento com demais partículas sólidas. Passados o tempo mínimo dessa etapa, a bebida segue para uma sequência de filtros que são responsáveis por clarificar a cerveja e retirar todas as impurezas restantes das etapas anteriores do processo. E por fim, quando todo o processo de filtração estiver concluído, a cerveja é enviada para o envase (STEWART; PRIEST, 2006). A Figura 3 representa de forma simplificada as etapas da parte fria do processo de produção de cerveja.

Figura 3: Fluxograma simplificado da etapa fria do processo cervejeiro.



Fonte: Adaptado - KUNZE, W. *Technology brewing and malting*. 5. ed. Berlin: VLB Berlin, 2014.

2.6.1 Monitoramento e controle da fermentação

2.6.1.1 Monitoramento da Redução de Extrato

A medição do extrato é a técnica mais utilizada para verificar o andamento da fermentação. A escala mais utilizada é a de graus Plato, que expressa a concentração de sólidos dissolvidos no mosto em gramas por 100 gramas de mosto. Por exemplo, 12° Plato correspondem a 12 g de extrato em 100 g de mosto (STEWART; PRIEST, 2006).

A precisão dessa medição depende da coleta de amostras representativas, normalmente realizada através de tubulações instaladas nos tanques contendo provadeiras na parte inferior. A coleta é feita em intervalos regulares e os dados são plotados em gráficos para comparação com curvas-padrão. As medições são feitas por meio de densímetros ou sacarômetros calibrados (KUNZE, 2014).

2.6.1.2 Monitoramento de Dicetonas Vicinais

O controle da concentração de dicetonas vicinais é utilizado para definir o final de diversas partes do processo fermentativo, sendo uma delas a fermentação primária. Quando a concentração total de dicetonas (incluindo seus precursores) atinge valores inferiores ao limite estabelecido, é possível prosseguir para a etapa de centrifugação (KUNZE, 2014).

As análises são realizadas em amostras coletadas periodicamente no final da etapa fermentativa. A determinação da concentração pode ser feita por espectrofotometria ou cromatografia gasosa, sendo essencial o pré-tratamento

das amostras para conversão do alfa-acetolactato em diacetil (EBLINGER, 2009).

2.6.1.3 Monitoramento da Temperatura

A temperatura desempenha um papel fundamental na dinâmica da fermentação, afetando tanto a taxa de crescimento celular quanto a formação de compostos secundários, como álcoois superiores e ésteres. Na fase final da fermentação, um leve aumento de temperatura favorece a conversão e a redução do diacetil pela ação da levedura. Em contrapartida, temperaturas muito elevadas promovem o excesso de espuma, aceleram a fermentação e elevam o risco de autólise das células sedimentadas, comprometendo a qualidade do produto final (KUNZE, 2014).

2.6.2 Estoque e Dosagem de Fermento

A estocagem de levedura acontece em tanques fechados de aço inoxidável de fundo levemente cônico e possuem algum meio de circulação ou agitação. Os tanques são dotados de parede dupla ou serpentina externa, nas quais circula solução refrigerante em temperaturas pouco agressivas à levedura. As tinas também podem possuir um sistema interno para esterilização de mosto. Alguns tanques possuem linha de gás para desaeração e para manter uma leve pressão positiva no interior do tanque. As torneiras de prova devem facilitar a sanitização no local e permitir a esterilização por vapor (STEWART; PRIEST, 2006).

Já a dosagem de fermento deve ser baseada no tipo de fermentação e no extrato original do mosto para produzir uma fermentação na velocidade adequada, obter o perfil de voláteis adequado, conseguir levedura em bom estado ao final da fermentação (para uma possível reutilização) e evitar o excesso de formação de biomassa com prejuízo da produtividade. A dosagem de levedura influencia a velocidade da fermentação e a extensão da multiplicação celular e, em valores relativamente baixos, há uma correlação positiva entre a dosagem e a biomassa das novas células (ROBINOW; JOHNSON, 1991).

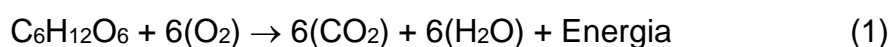
A determinação da quantidade de células em suspensão por unidade de volume ou peso da amostra é um método, apesar de menos simples, que tem a vantagem de corrigir erros na dosagem devido à presença de sólidos diferentes da levedura (WALKER, 2000). Igualmente, pode-se medir a viabilidade e adicionar um fator de correção. A contagem pode ser feita eletronicamente, em equipamentos com maior precisão, ou então através de contagem manual em microscópio por meio de fatores de multiplicação. Atualmente, existem medidores de biomassa que garantem uma dosagem bem mais precisa em relação à taxa de inoculação desejada de células viáveis e geralmente são utilizados em cervejarias mais modernas (EBLINGER, 2009).

Além disso, devem ser utilizados equipamentos que estressem ao mínimo a levedura e não comprometam sua estrutura celular. Para tal, bombas de deslocamento positivo lobuladas são usadas para injetar a massa de fermento na linha do mosto frio e são capazes de transportar suavemente materiais de alta viscosidade, pois há presença de lóbulos em eixos paralelos para bombear líquidos (STEWART; PRIEST, 2006).

2.7 METABOLISMO DA LEVEDURA NO PROCESSO CERVEJEIRO

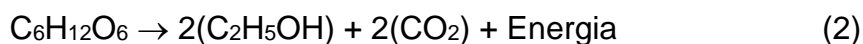
2.7.1 Respiração Aeróbia

A maioria das células, incluindo as do corpo humano, extraem energia do açúcar através de um processo chamado respiração. Durante a respiração, o açúcar e o oxigênio são convertidos em gás carbônico e água. Quando uma substância rica em energia, como o açúcar, é quebrada para formar compostos mais simples, o restante de energia química é liberado. Como a água e o CO₂ em si possuem pouca energia química, a energia liberada por esta reação é bastante grande (EBLINGER, 2009). A reação química (1) abaixo ilustra de forma simplificada a respiração aeróbia.



2.7.2 Fermentação Alcoólica

Durante a etapa fermentativa, a levedura converte açúcares em álcool etílico e gás carbônico. A quantidade de energia liberada por este processo é muito menor do que a respiração porque o etanol é um composto rico em energia. Assim, para obter a energia necessária para sobreviver e reproduzir, a célula de levedura é forçada a converter muita glicose em etanol e dióxido de carbono. A rápida conversão de açúcar é uma característica muito desejável no processo cervejeiro (FLORÊNCIO, 2022). A reação química (2) ilustra de (1) maneira simples a fermentação alcoólica.



Conforme discutido, a fermentação libera muito menos energia do que a respiração aeróbica. Se o oxigênio estiver disponível, o fermento prefere a respiração aeróbica, pois libera muito mais energia favorecendo o seu crescimento. Porém, a levedura em uma solução com mais de um por cento de glicose selecionará a fermentação mesmo se houver oxigênio disponível (FLORÊNCIO, 2022).

Esse comportamento ocorre porque, na presença de glicose, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* sofre repressão na transcrição de diversos genes, resultando em rápidas alterações em proteínas e sistemas de transporte. Esse fenômeno é conhecido como repressão e inativação catabólica por carbono. As transformações bioquímicas induzidas pela glicose também são acompanhadas por alterações morfológicas nas células, que passam a não desenvolver mitocôndrias totalmente funcionais, necessárias para a realização da respiração (FLORÊNCIO, 2022).

Por isso, o controle do perfil de açúcares do mosto é fundamental, uma vez que altas concentrações de glicose podem dificultar a atenuação do extrato e favorecer a formação excessiva de acetaldeído e dióxido de enxofre. Esse efeito ocorre porque a alta concentração intracelular de glicose inibe determinados processos metabólicos na levedura (FLORÊNCIO, 2022).

O mosto fornece um meio de cultura que favorece o crescimento da levedura, sendo a cerveja o subproduto dessa atividade. A escolha da cepa considera quais são as condições operacionais da etapa fermentativa quanto a composição final da cerveja, contendo seus respectivos sabores e aromas. Leveduras cervejeiras possuem mecanismos seletivos para o consumo de nutrientes, principalmente carboidratos, fontes de nitrogênio, lipídios e íons, influenciando a formação de compostos de aroma e sabor (KUNZE, 2014).

2.7.3 Consumo de Carboidratos pela Levedura

A glicólise é o início da conversão de glicose em dióxido de carbono e etanol. Consiste em uma série de reações químicas que convertem a glicose em piruvato. Neste processo de conversão há liberação de energia que é armazenada na célula sob a forma de moléculas de trifosfato de adenosina (ATP). A célula de levedura utiliza essa energia mais tarde para fabricar proteínas e outros componentes celulares (WALKER, 2000).

Após a glicólise, a célula pode usar o piruvato de várias maneiras. O uso mais importante para uma cervejeira é a formação de dióxido de carbono e etanol, ou seja, a fermentação alcoólica, onde o etanol e o CO₂ são excretados da célula como produtos. Porém nem todo o açúcar é convertido em álcool, pois caso fosse, a célula teria energia, mas não teria os materiais necessários para construir e manter estruturas celulares que suportam sua reprodução (WALKER, 2000).

No entanto, o piruvato também é o ponto de partida para o ciclo de Krebs, também conhecido como ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) ou ciclo do ácido cítrico. O ciclo de Krebs produz os materiais que a célula precisa para sobreviver e crescer, já que ele funciona como uma sequência metabólica comum à maioria das células (KLEIN; OLSSON; NIELSEN, 1998). E embora não funcione como um ciclo completo na fermentação de cervejas, o ciclo é importante porque produz ácidos orgânicos e outros intermediários necessários para a síntese de aminoácidos, usados para construir moléculas de proteínas. E os subprodutos deste processo incluem álcoois superiores, ácidos orgânicos e ésteres e outros produtos químicos que são importantes para o sabor e aroma da cerveja (EBLINGER, 2009).

O transporte de açúcares para o interior da célula de levedura ocorre por sistemas específicos, que são ativados pela presença do respectivo açúcar no mosto. A utilização dos açúcares é regulada pela levedura, priorizando a glicose, que é absorvida inicialmente no caso da *S. cerevisiae*, enquanto o transporte de outros açúcares é inibido, até que o açúcar que está sendo consumido seja reduzido a valores ínfimos (AZEREDO, 2016).

A sacarose é quebrada em glicose e frutose pela ação da invertase, mas essa enzima é inibida quando há alta concentração de glicose. Dessa forma, a utilização da sacarose só ocorre quando o teor de glicose diminui para níveis não-repressivos (KLEIN; OLSSON; NIELSEN, 1998).

Após a completa assimilação da glicose, a maltose passa a ser consumida, seguida pela maltotriose. Já os polissacarídeos de maior peso molecular não são fermentáveis pelas leveduras cervejeiras, permanecendo na cerveja e contribuindo para seu corpo. Caso se deseje sua degradação, é necessária a adição de enzimas comerciais (AZEREDO, 2016).

2.7.4 Consumo de Compostos Nitrogenados

Durante a fermentação, as fontes de nitrogênio são encontradas em proteínas, polipeptídeos, aminoácidos e nucleotídeos, sendo os aminoácidos os principais compostos para o bom desempenho fermentativo e para a qualidade final da cerveja (KUNZE, 2014).

A soma dos aminoácidos livres e pequenos peptídeos é denominada FAN (*Free Amino Nitrogen*), que representa a principal fonte de nitrogênio disponível para a levedura. A ausência de níveis adequados de FAN compromete a síntese proteica e o crescimento celular. Além disso, fatores como aumento da pressão e da concentração de gás carbônico podem interferir na absorção dos aminoácidos pela levedura, resultando em alterações no perfil organoléptico da cerveja (SILVA, 2019).

Valores insuficientes de FAN no mosto podem ser causados por cevada maltada de baixa proteína, ou em outros casos por mudanças nos processos de mosturação, podendo afetar a quantidade de FAN disponível, já que nesta etapa ocorre a conversão das proteínas em aminoácidos. Porém mosturações mais

longas resultam em um FAN elevado, o que pode gerar uma formação excessiva de espuma, afetando compostos e aromas desejáveis (SILVA, 2019).

A absorção de aminoácidos pela levedura ocorre através de diversas permeases, proteínas de membrana que facilitam a entrada desses compostos na célula. Algumas permeases são específicas para determinados aminoácidos, enquanto outras possuem ampla especificidade de substrato. No entanto, algumas permeases podem ser reprimidas dependendo das fontes de nitrogênio disponíveis no mosto. Dessa forma, existe uma ordem preferencial na absorção dos aminoácidos, influenciada também pelas condições do meio (KUNZE, 2014).

2.7.5 Consumo de Lipídeos e Oxigênio

Lipídios, ácidos graxos e esteróis são utilizados na formação da membrana plasmática da célula de levedura e sua formação precisa de oxigênio e piruvato. Existe, portanto, uma relação direta entre a quantidade de lipídios sintetizados e o crescimento do fermento. Além disso, as células da cevada e os grãos adjuntos também contêm lipídios, portanto os lipídios estão presentes no mosto, mas a maioria desses lipídios são removidos durante a filtração e na remoção de *trub* frio (KUNZE, 2014).

A levedura usa o oxigênio para sintetizar esteróis e ácidos graxos insaturados, componentes fundamentais da membrana celular. A deficiência de oxigênio no início da fermentação resulta em uma fermentação mais lenta, em uma baixa multiplicação celular e uma atenuação incompleta. A necessidade de oxigênio varia conforme a cepa, sendo que, em média, 10% do oxigênio dissolvido é destinado à produção de esteróis e 15% à formação de ácidos graxos insaturados. O restante é consumido em reações de oxidação do mosto e em outros processos metabólicos ainda não totalmente compreendidos (EBLINGER, 2009).

2.7.6 Consumo de Íons Metálicos

Certos íons metálicos atuam como nutrientes essenciais para a levedura. Sua ausência no meio de cultura compromete o metabolismo celular, já que diversas enzimas dependem desses íons como cofatores. O zinco, por exemplo,

é um cofator fundamental para várias enzimas-chave e está diretamente associado ao processo de multiplicação celular (WALKER, 2004).

O zinco também é necessário para a floculação de levedura, então quando o crescimento do fermento para, é produzida a floculina, que permite a levedura se ligar a outras células. Portanto, uma vez que a quantidade de zinco adicionada ao mosto é proporcional à quantidade de floculação de levedura, a adição de zinco é usada como ferramenta de controle de floculação (WALKER, 2004).

A levedura pode, no entanto, reter muitos íons metálicos sem nenhuma função específica e tal acúmulo pode causar efeitos tóxicos (WALKER, 2004). Assim é fundamental realizar análises laboratoriais para identificar a quantidade destes íons encontrados no mosto (EBLINGER, 2009).

2.7.7 Formação de Carboidratos de Reserva

O glicogênio atua como reserva de energia, a ser usada nos momentos de escassez de nutrientes, sendo um polímero de unidades de glicose com estrutura ramificada. A utilização do glicogênio envolve a participação das enzimas glicogênio-fosforilase e amilo-alfa-(1-6)-glucosidase, ambas responsáveis por quebrar o polímero em unidades de glicose (KLEIN; OLSSON; NIELSEN, 1998).

Em condições apropriadas, a célula de levedura apresenta entre 20 e 30% de seu peso seco em glicogênio, podendo chegar a 40% em alguns casos. Medições demonstram que até 4% dos açúcares fermentáveis do mosto podem ser utilizados para síntese desse carboidrato de reserva pela levedura (STEWART; PRIEST, 2006).

Após a inoculação da levedura em mosto aerado, ocorre o consumo imediato do glicogênio, associado à síntese de esteróis, sendo que esse consumo se encerra com o esgotamento do oxigênio (AZEREDO, 2016). Durante a fermentação acelerada e a multiplicação celular, o glicogênio volta a se acumular, atingindo seu nível máximo ao final da fase primária da fermentação. No período estacionário, com o fim da multiplicação, os níveis de glicogênio começam a diminuir (KUNZE, 2014).

A trealose é outro carboidrato de reserva importante na levedura, atuando tanto como fonte de energia quanto como agente de proteção celular. Essa molécula contribui para a resistência térmica e à desidratação em diversos organismos, incluindo insetos, plantas, leveduras e outros fungos (KLEIN; OLSSON; NIELSEN, 1998).

Semelhante ao glicogênio, a trealose é acumulada em situações de limitação de nutrientes, funcionando também como um polímero de reserva. Sua formação ocorre após o estabelecimento da reserva de glicogênio, utilizando parte desse glicogênio para a síntese de trealose (KUNZE, 2014).

Na levedura, a trealose tem o papel de estabilizar a membrana quando a célula se encontra sob condições de estresse, tais como calor, frio, baixa atividade de água, pressões osmóticas elevadas e altas concentrações de etanol (AZEREDO, 2016).

Por fim, preparações comerciais de levedura seca para panificação ou para uso em cervejaria são conseguidas com a promoção da formação e absorção de trealose durante sua produção. A concentração de trealose varia entre 15 e 20% do peso seco desse tipo de levedura (EBLINGER, 2009).

2.7.8 Síntese de Esteróis e Ácidos Graxos

Durante a fermentação de cervejas, o fornecimento de oxigênio controla a síntese de esteróis. Na fase anaeróbica, o esterol pré-formado é dividido entre as células-mãe e as células-filhas durante a multiplicação, que prossegue até que a disponibilidade de esteróis se torne um fator limitante (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

A formação de esteróis está associada à rápida redução das reservas de glicogênio, uma vez que a membrana apresenta baixa capacidade de absorver fontes externas de carbono e energia nesse estágio. Assim, a levedura recorre ao glicogênio armazenado. A quantidade de esteróis sintetizada é relativamente pequena, passando de 0,1% para cerca de 1% do peso seco celular até o final da fermentação (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

Os esteróis são sintetizados a partir de Acetil-CoA, dando origem primeiramente ao esqualeno, depois usando oxigênio molecular, a levedura forma o 2-3-epóxi-esqualeno e em seguida, é formado o lanosterol. Os demais esteróis,

incluindo o ergosterol, são produzidos a partir do lanosterol presente em vias metabólicas complexas, em reações que variam de uma cepa para outra (KUNZE, 2014).

A produção de ácidos graxos insaturados também depende da disponibilidade de oxigênio dentro da célula, sendo o ácido palmitoleico e o ácido oleico os mais encontrados. Além de garantir maior fluidez à membrana, esses ácidos influenciam o aproveitamento dos esteróis e a geração de ésteres. A presença de ácidos graxos insaturados, por exemplo, atua inibindo a atividade da enzima álcool-acetil-transferase, responsável pela síntese de ésteres (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

2.7.9 Formação do Perfil Sensorial

A fermentação tem papel decisivo na formação do perfil de aroma e sabor da cerveja, através da produção de diversos metabólitos pela levedura. A composição final desses compostos é influenciada pela escolha da cepa, pelas condições operacionais e pelos componentes do mosto. Entre os principais metabólitos estão ácidos orgânicos, álcoois superiores, ésteres, compostos de enxofre, acetaldeídos e dicetonas, sendo que esses compostos podem influenciar a qualidade do produto final de forma desejada ou indesejada, caracterizando os *off-flavors* se esses compostos estiverem acima ou abaixo do permitido, impactando no sabor (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

2.7.9.1 Ácidos Orgânicos

A cerveja contém mais de 100 tipos de ácidos orgânicos, sendo muitos provenientes do mosto. Porém, as concentrações de alguns desses compostos são alteradas durante a etapa fermentativa, evidenciando seu envolvimento nas atividades metabólicas. Esses ácidos são responsáveis pela diminuição do pH da cerveja, especialmente nas etapas iniciais da fermentação (STEWART, PRIEST, 2006).

Além disso, eles fazem parte do perfil sensorial, conferindo aspectos particulares para cada tipo de ácido orgânico, como por exemplo o ácido succínico, que traz um paladar salgado ou amargo para a bebida. Outros tipos, como o ácido pirúvico, cítrico, málico, acético e láctico também são formados. Outros

exemplos são os ácidos graxos de cadeia curta, como o caprílico e o capróico, que trazem aromas indesejados que lembram o do sabão (VAN RIJSWIJCK, 2017).

2.7.9.2 Álcoois Superiores

Mais de quarenta tipos de álcoois superiores já foram identificados na cerveja. Quando presentes em concentrações acima do limiar sensorial, esses compostos exercem influência direta nas características organolépticas. Os níveis típicos na cerveja variam entre 10 e 100 ppm (KUNZE, 2014).

Esses álcoois contribuem diretamente para intensificar o aroma e o sabor alcoólico, além de provocar uma sensação de aquecimento na boca. Indiretamente, também afetam o perfil aromático por atuarem como precursores na formação de ésteres durante a fermentação (SAERENS *et al.*, 2010). Sua produção pode ocorrer por duas rotas: uma de origem anabólica, a partir do piruvato, e outra como resultado do metabolismo de aminoácidos (STEWART, PRIEST, 2006).

Em ambos os casos, os precursores são os alfa-cetoácidos que sofrem descarboxilação, formando um aldeído posteriormente reduzido ao álcool superior correspondente. Na via anabólica, esses cetoácidos derivam de intermediários como o piruvato ou o acetil-CoA, sendo parte da biossíntese de aminoácidos (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

A geração de álcoois superiores pode ser regulada por três aspectos principais: a escolha da levedura, a formulação do mosto e os parâmetros operacionais. Entre esses, a seleção da cepa costuma ser a abordagem mais eficiente, já que diferentes linhagens apresentam variações significativas na produção desses compostos (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

De forma semelhante ao que ocorre com os ácidos orgânicos, a síntese de álcoois superiores está ligada a taxas elevadas de multiplicação celular e a temperaturas mais altas durante a fermentação. Por outro lado, um aumento na liberação de CO₂ influencia o metabolismo da levedura, levando à redução na formação desses álcoois (KUNZE, 2014).

2.7.9.3 Ésteres

Os ésteres são compostos essenciais para o aroma da cerveja, com cerca de 100 tipos já identificados, todos formados durante a fermentação. Contribuem com notas florais e frutadas, como o acetato de etila, acetato de isoamila e hexanoato de etila. Sua formação ocorre por reações enzimáticas entre álcoois (como etanol) e Acil-CoA, catalisadas principalmente pelas enzimas Acil-CoA-sintetase e álcool-acil-transferase (SAERENS *et al.*, 2010).

A principal teoria com relação a formação de ésteres era limitada pela disponibilidade de Acil-CoA, já que esse composto é consumido na síntese de esteróis e ácidos graxos insaturados durante a multiplicação celular. No entanto, estudos mais recentes mostram que há Acil-CoA suficiente na célula, enfraquecendo essa hipótese (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

Atualmente, entende-se que os fatores que influenciam a formação de ésteres estão mais ligados à regulação da atividade das álcool-acil-transferases (AAT), enzimas sensíveis e difíceis de estudar. A presença de lipídios, oxigenação excessiva do mosto e alta formação de CO₂ estão entre os principais inibidores dessas enzimas (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

Altos níveis de ácidos graxos insaturados reduzem a síntese de ésteres, especialmente durante a fase intensa de multiplicação celular. Já na segunda metade da fermentação primária, com a queda da taxa de crescimento, a produção de ésteres aumenta (SAERENS *et al.*, 2010).

A proporção de cada éster varia conforme a cepa de levedura. No caso das cervejas *Weizenbier*, são utilizadas leveduras que geram altos teores de acetato de isoamila e isobutila, conferindo um perfil frutado característico, semelhante ao aroma de banana (TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

2.7.9.4 Aldeídos

Os aldeídos apresentam limiares de percepção sensorial muito mais baixos que os álcoois correspondentes, podendo conferir aromas com notas de folhas verdes ou grama cortada, dependendo do composto. Estão presentes em alta concentração no mosto, mas são significativamente reduzidos ao longo da

fermentação. No entanto, em cervejas sem álcool obtidas por fermentação limitada, esses compostos permanecem, conferindo um aroma típico de mosto (VAN RIJSWIJCK, 2017).

Além dos aldeídos já presentes no mosto, outros são gerados pelo metabolismo da levedura, que também é responsável pela conversão de grande parte desses compostos em álcoois. Parte dos aldeídos pode ainda ser removida do sistema pelo arraste com o CO₂ durante a fermentação (KUNZE, 2014).

O acetaldeído merece uma análise distinta dos aldeídos de cadeia mais longa, pois está diretamente envolvido na etapa intermediária da formação do etanol. Em determinadas condições, pode permanecer na cerveja em concentrações superiores ao seu limiar de percepção, que varia entre 10 e 20 ppm, sendo normalmente classificado como um *off-flavor*, sendo desejado em tipos muito específicos de cerveja (VAN RIJSWIJCK, 2017).

A produção de acetaldeído na cerveja ocorre principalmente entre o início e o meio da fermentação, durante a fase de maior atividade da levedura e intensa multiplicação celular. Com o avanço para a fase estacionária, sua concentração tende a diminuir. O nível final de acetaldeído após a fermentação depende do equilíbrio entre as enzimas que o formam — como a piruvato-descarboxilase e a álcool-desidrogenase — e aquelas responsáveis por sua conversão, como a acetaldeído-desidrogenase. Além disso, na cerveja pronta, a oxidação do etanol pode contribuir para um aumento adicional de acetaldeído (KUNZE, 2014).

Concentrações elevadas de acetaldeído na cerveja estão geralmente relacionadas ao baixo desempenho fermentativo da levedura. Esse problema pode ser consequência da aplicação de parâmetros inadequados durante a fermentação, como temperaturas excessivas, aeração prolongada ou taxas de inoculação muito altas. O fator mais recorrente associado ao aumento de acetaldeído é o comprometimento do estado fisiológico da levedura, resultante do estresse gerado por essas condições operacionais desfavoráveis (KUNZE, 2014).

2.7.9.5 Dicetonas Vicinais

As principais dicetonas vicinais encontradas na cerveja são o diacetil (2,3-butanodiona) e a 2,3-pentanodiona. Ambas apresentam aroma característico, semelhante ao de manteiga ou caramelo. No entanto, o limiar de percepção do

diacetil é significativamente mais baixo, em torno de 40 ppb, quando comparado ao da pentanodiona (KUNZE, 2014).

A formação e a remoção do diacetil durante a produção da cerveja ocorrem em três etapas distintas. A fase inicial acontece no interior da célula da levedura, durante a via metabólica responsável pela síntese do aminoácido valina. Nesse processo, é gerado o composto alfa-acetolactato (AAL), que, produzido em excesso, é parcialmente liberado pela levedura para o meio fermentativo (STEWART; PRIEST, 2006).

A segunda fase é uma reação lenta, espontânea e não catalisada por enzimas. Nessa etapa, o alfa-acetolactato sofre descarboxilação oxidativa fora da célula, resultando na formação de diacetil. Já na terceira fase, que ocorre entre a metade e o final da fermentação, a levedura absorve o diacetil presente no meio e o converte em acetoína e 2,3-butanodiol, que são compostos com limiar de percepção sensorial significativamente mais alto (STEWART; PRIEST, 2006).

A geração dos precursores alfa-aceto-hidróxiácidos está fortemente vinculada ao metabolismo dos aminoácidos. Tanto a concentração total de FAN no mosto quanto a variedade de aminoácidos absorvidos pela levedura exercem influência nesse processo. Quando os níveis de FAN são muito baixos, pode ocorrer um segundo pico na curva de formação dos precursores. Isso porque, após consumir a limitada quantidade de valina disponível, a levedura passa a sintetizar esse aminoácido internamente, o que leva à produção adicional de alfa-acetolactato, precursor direto do diacetil (KUNZE, 2009).

De maneira geral, condições que estimulam a multiplicação celular também intensificam a formação dos precursores do diacetil durante a fermentação. A conversão do AAL em diacetil é favorecida por valores mais baixos de pH, temperaturas elevadas e pela presença de certos íons metálicos (EBLINGER, 2009).

A aplicação de temperaturas ligeiramente mais altas no final da fermentação auxilia na conversão do precursor, o que é benéfico para o processo, pois permite que a levedura, se em boas condições fisiológicas, reabsorva e reduza rapidamente o diacetil. Além disso, o uso de cepas menos floculentas também contribui para uma remoção mais eficiente do diacetil (EBLINGER, 2009).

2.7.9.6 Dióxido de Enxofre

Diversas substâncias orgânicas e inorgânicas contendo enxofre participam direta ou indiretamente da definição do perfil sensorial da cerveja. Algumas dessas moléculas são provenientes do mosto e permanecem inalteradas até o produto final, enquanto outras são formadas ou transformadas pela atividade metabólica da levedura. Entre os compostos mais relevantes estão o dióxido de enxofre (SO_2) e o sulfeto de hidrogênio (H_2S), que em concentrações baixas podem contribuir positivamente, mas em níveis elevados geram odores indesejáveis. Além disso, compostos sulfurosos influenciam o aroma de forma indireta ao se associarem, de maneira reversível, a compostos carbonílicos (KUNZE, 2014).

O dióxido de enxofre (SO_2) gerado durante a fermentação pode se complexar com aldeídos como o acetaldeído, responsáveis por aromas associados ao envelhecimento da cerveja. Nessa forma complexada, o SO_2 atua mascarando esses aromas indesejáveis. Além disso, exerce função antioxidante, contribuindo para a estabilidade sensorial da cerveja (WUTTKE, 2018).

Os aminoácidos presentes no mosto exercem efeito inibitório sobre a produção de dióxido de enxofre (SO_2) a partir do sulfato. Isso indica que a proporção entre açúcares fermentáveis e o FAN influencia diretamente a regulação da síntese de SO_2 . Fatores que intensificam a multiplicação celular, e consequentemente prolongam o consumo de aminoácidos, também acabam reduzindo, de forma indireta, a geração de SO_2 (WUTTKE, 2018).

O dióxido de enxofre apresenta alta volatilidade e é parcialmente removido do sistema durante as fases de fermentação e maturação, sendo arrastado pelas bolhas de dióxido de carbono que se desprendem do líquido. Fermentações mais intensas resultam em maior expulsão de SO_2 , devido à produção elevada de CO_2 . Assim, o aumento da atividade celular, estimulado pela biossíntese de lipídios e pela alta aeração, também contribui para a diminuição do teor de dióxido de enxofre. Já o aumento da temperatura acelera a fermentação e favorece a liberação de CO_2 em forma de bolhas, promovendo a eliminação de dióxido de enxofre (EBLINGER, 2009).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CONDIÇÕES DE PROCESSO E COMPOSTOS VOLÁTEIS ANALISADOS

Neste trabalho, foram avaliados alguns dos principais parâmetros em qualquer fábrica de cerveja e seus respectivos impactos na formação dos compostos voláteis. Os dados são provenientes de uma cervejaria localizada em Agudos (São Paulo) que produz cervejas do tipo *Lager* (do tipo *Pilsen*), que são conhecidas por serem mais leves e refrescantes. Essas cervejas são produzidas em tanques fermentadores com capacidade de 350.000 L e os principais parâmetros do processo cervejeiro estão listados na sequência com suas faixas de operação desejadas para se produzir este tipo de cerveja em específico (KUNZE, 2014).

- a) Extrato original (EO): Entre 17,5 e 18,5 °P;
- b) pH: Entre 4 a 5;
- c) Temperatura 1ª fase (TPF): Entre 10,5 a 11,5 °C;
- d) Temperatura 2ª fase (TSF): Entre 16 a 18 °C;
- e) Contra pressão (CP): Entre 0,4 a 0,7 bar.
- f) Aeração (AR): Entre 18 a 23 g de ar/(h.L) de mosto.
- g) FAN: Entre 60 e 100 (mg/L).
- h) Dosagem de fermento (DF): Não existe uma faixa de operação pré-estabelecida porque essa dosagem varia de acordo com a quantidade de fermento em quilos disponível para ser utilizada em uma fermentação. Portanto, sua utilização é feita de acordo com a demanda de produção de cerveja.

Além das condições de processo, serão analisados alguns dos compostos voláteis formados na fermentação, sendo que estas faixas também foram obtidas para se obter um perfil sensorial adequado (KUNZE, 2014).

- a) Acetaldeído (Até 6 ppb);
- b) Acetato de etila (12 a 15 ppb);
- c) Acetato de isoamila (Acima de 1,2 ppb);

d) Dióxido de enxofre (4 a 10 mg/L);

3.2 ANÁLISES GRÁFICAS

Para realizar as devidas correlações entre os parâmetros e os voláteis formados durante a etapa fermentativa, foram utilizados três tipos diferentes de análises gráficas, que comparam diversas situações para tentar identificar como cada condição de processo afeta a formação destes compostos químicos.

A primeira análise foi feita utilizando gráficos de dispersão, onde uma condição de processo (eixo das abscissas) é relacionada com um composto volátil (eixo das ordenadas), totalizando um total de quarenta gráficos. Além disso, nestes gráficos foram exploradas as faixas de operação, onde a faixa verde indica “dentro de faixa” e a faixa vermelha indica “fora de faixa”. Isso permite explorar se estas faixas pré-estabelecidas estão de acordo com o processo ou se podem ser revisadas, para que se possa obter o perfil sensorial desejado.

A segunda análise também utilizou gráficos de dispersão, porém agora relacionando apenas os compostos voláteis entre si. Essa análise é uma forma de identificar possíveis combinações entre eles, vendo se a respectiva formação de algum deles também favorece ou não a formação de outro.

A terceira análise foi feita a partir de gráficos do tipo radar, que é um gráfico que avalia múltiplas variáveis em torno de um ponto central, de forma que as linhas do gráfico se conectam formando uma espécie de figura poligonal (STEPHEN, 2012). Isso serve para avaliar de forma combinada fermentações que foram consideradas dentro de faixa e fora de faixa, com o objetivo de buscar padrões entre elas. Devido a diferença entre as escalas dos parâmetros operacionais, foi realizada uma normalização mínimo-máximo, que transforma os dados para um intervalo definido entre 0 e 1, de forma a preservar as relações proporcionais entre os valores (HAN; KAMBER; PEI, 2011). A Equação (3) ilustra esta normalização.

$$x' = \frac{x - \min(x)}{\max(x) - \min(x)} \quad (3)$$

Por fim, a última análise foi realizada em um gráfico do tipo *Heatmap* (mapa de calor), consistindo em uma representação gráfica de dados onde os valores contidos na tabela são ilustrados por cores, possibilitando a visualização de padrões ou correlações dos dados coletados (MONTGOMERY; RUNGER, 2016).

Para sua execução, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson, que avalia a associação linear de duas variáveis quantitativas, por meio da Equação (4).

$$r = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}} \quad (4)$$

Todos os gráficos de dispersão, o gráfico tipo radar e o gráfico tipo “mapa de calor” foram feitos utilizando o *software* Microsoft Excel®, utilizando as ferramentas que essa ferramenta fornece.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para realizar este trabalho foram coletadas 30 amostras, sendo que cada uma destas corresponde a uma fermentação. Com isso, foram feitas análises gráficas para investigar possíveis correlações entre as variáveis de processo e a formação dos compostos voláteis avaliados. Entretanto, é válido ressaltar que o perfil de voláteis pode variar de acordo com o tipo da cerveja, então o que é desejado para uma, pode ser indesejado para outra, demonstrando que esse perfil depende muito da escolha da bebida e dos ingredientes utilizados na sua produção. Os dados das fermentações estão divididos nos Quadros (1) e (2).

Quadro 1: Condições de processo coletadas.

Amostra	EO (°P)	pH	TPF (°C)	TSF (°C)	CP (bar)	AR (g/(h.L))	FAN (mg/L)	DF (kg)
1	17,73	4,17	10,60	15,90	0,41	17,96	86,00	4000,00
2	17,75	4,19	10,70	16,20	0,48	18,52	83,00	4500,00
3	17,47	4,21	10,80	16,70	0,52	20,41	86,00	3500,00
4	17,95	4,18	10,70	16,00	0,49	18,63	85,00	3600,00
5	17,87	4,23	11,00	16,80	0,53	20,39	84,00	3700,00
6	17,99	4,30	10,90	16,30	0,49	19,58	91,00	3600,00
7	17,99	4,29	11,20	17,10	0,61	21,58	92,00	3700,00
8	17,82	4,21	10,80	16,30	0,52	19,25	91,00	3800,00
9	17,67	4,38	10,70	16,20	0,51	19,26	85,00	4000,00
10	17,82	4,15	11,00	16,70	0,58	20,39	96,00	4100,00
11	17,34	4,17	11,10	16,60	0,57	20,19	91,00	4500,00
12	18,3	4,2	11,30	17,40	0,65	21,71	97,00	4200,00
13	17,82	3,98	10,90	16,00	0,47	18,85	80,00	5000,00
14	18,08	4,25	11,60	18,30	0,78	24,12	68,00	4900,00
15	17,88	4,42	11,40	17,90	0,70	23,89	101,00	4500,00
16	18,04	4,29	10,90	16,80	0,58	20,80	89,00	4800,00

Continuação do Quadro 1

17	17,74	4,19	10,70	16,50	0,52	19,86	91,00	4700,00
18	17,78	4,43	10,70	15,90	0,46	17,99	98,00	3600,00
19	17,69	4,49	10,60	16,70	0,50	19,49	101,00	3700,00
20	17,65	4,35	10,50	17,10	0,48	18,06	105,00	3900,00
21	17,52	4,45	11,20	17,80	0,68	22,45	95,00	3800,00
22	17,69	4,39	10,80	16,40	0,56	21,07	95,00	4100,00
23	17,52	4,64	10,60	16,20	0,44	17,85	80,00	4200,00
24	17,41	4,72	10,50	16,10	0,43	17,50	91,00	4200,00
25	17,8	4,65	10,70	15,80	0,41	17,42	94,00	4200,00
26	18,26	4,90	10,90	16,20	0,44	17,85	83,00	4500,00
27	18,03	4,80	10,90	16,60	0,47	18,13	87,00	4200,00
28	17,95	4,78	11,10	16,30	0,47	18,01	90,00	4100,00
29	17,84	4,59	11,00	16,20	0,42	17,65	71,00	3900,00
30	17,96	4,52	10,90	16,80	0,52	19,38	85,00	4000,00

Fonte: Elaborado pelo autor.

Quadro 2 – Quantificação dos compostos voláteis formados nas respectivas fermentações.

Amostra	Acetaldeído (ppb)	Acetato de etila (ppb)	Acetato de isoamila (ppb)	Dióxido de enxofre (mg/L)
1	4,47	20,17	2,06	4,50
2	5,82	16,80	2,00	6,30
3	7,60	20,87	1,86	7,20
4	5,96	15,02	1,09	8,30
5	7,53	10,26	2,05	8,90
6	6,61	19,80	1,90	9,20
7	9,13	10,96	2,00	7,10
8	6,34	11,57	1,09	8,40
9	6,31	14,16	1,00	5,60
10	7,26	15,62	1,40	4,80
11	7,13	12,00	0,76	5,90

Continuação do Quadro 2

12	9,34	11,17	1,26	5,70
13	6,02	11,02	1,06	6,80
14	13,03	10,37	1,25	9,80
15	11,25	11,87	1,12	7,10
16	7,36	10,58	1,26	7,90
17	6,42	15,34	0,89	8,40
18	5,46	10,70	0,73	7,90
19	6,63	11,54	0,96	8,60
20	5,02	14,86	0,67	7,90
21	10,90	12,66	1,44	6,60
22	7,14	12,15	1,41	5,60
23	4,88	22,74	1,38	4,50
24	4,45	15,37	2,00	4,60
25	4,14	20,74	2,00	4,80
26	4,68	17,53	1,48	5,10
27	5,10	18,66	1,26	4,90
28	4,99	14,77	3,06	4,80
29	4,30	18,93	2,66	4,20
30	6,34	11,70	1,93	5,30

Fonte: Elaborado pelo autor.

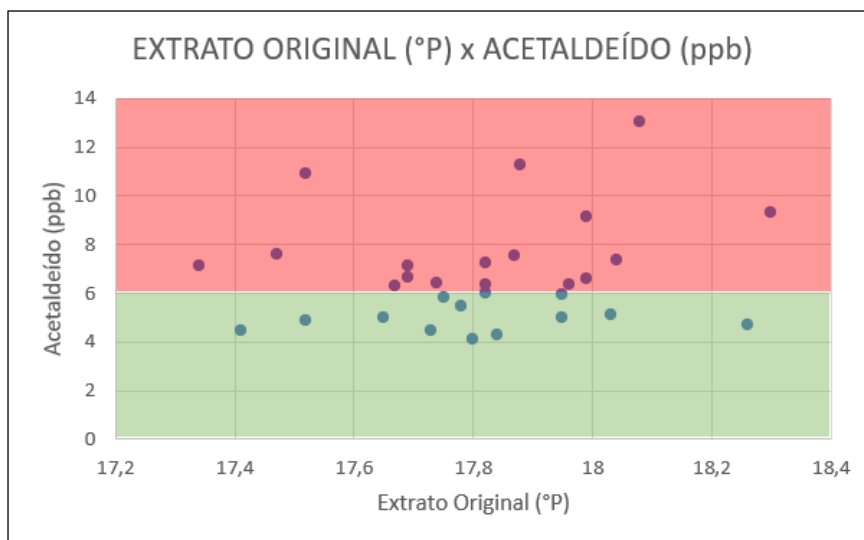
Todos os gráficos do tipo dispersão contêm faixas verdes que significam que as amostras contidas estão dentro da faixa de operação, enquanto que as amostras contidas na faixa vermelha indicam que elas estão fora da faixa de operação.

4.1 EFEITO DO EXTRATO ORIGINAL (°P)

O extrato original consiste na quantidade de açúcares provenientes no mosto, medidos em graus Plato (°P). Estes açúcares fermentescíveis foram formados na brassagem para dar as devidas condições para que a levedura

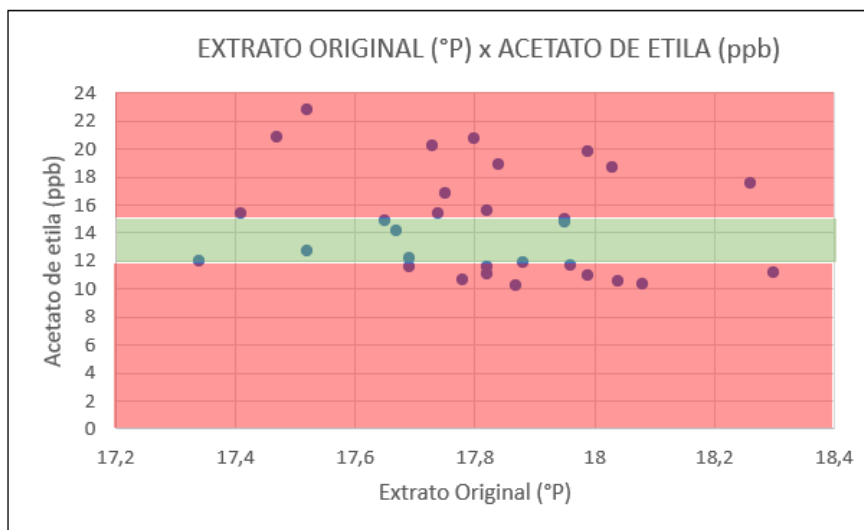
possa se desenvolver. A Figura 4 mostra o perfil de voláteis com relação ao extrato.

Figura 4 (A) - Correlação entre o teor de extrato original e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



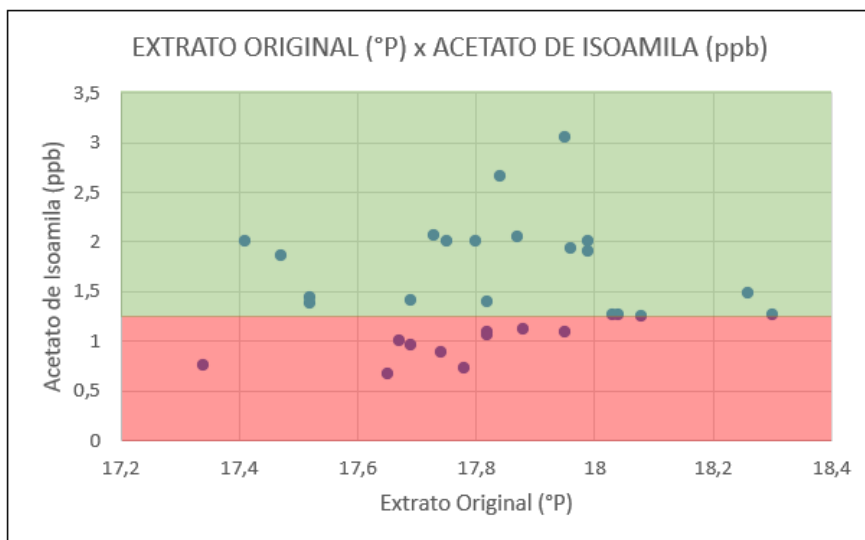
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4 (B) - Correlação entre o teor de extrato original e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



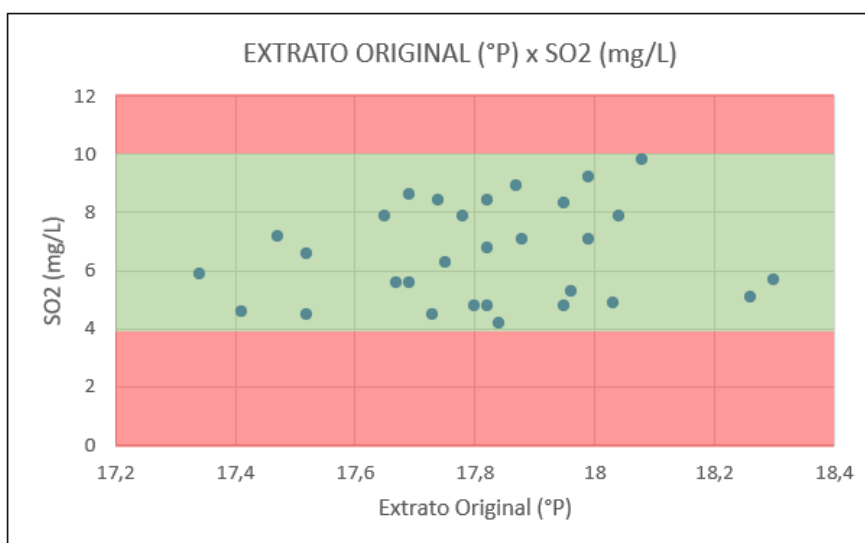
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4 (C) - Correlação entre o teor de extrato original e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 4 (D) - Correlação entre o teor de extrato original e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 4 mostra que a maior parte das coletas tem uma quantidade de açúcares abaixo de 18°P, e que os resultados variam bastante entre dentro e fora de faixa. Dessa forma, estes gráficos revelam que não há uma correlação linear muito evidente entre estas variáveis, sugerindo que o teor de açúcares inicial não é o principal fator determinante para as variações detectadas no perfil

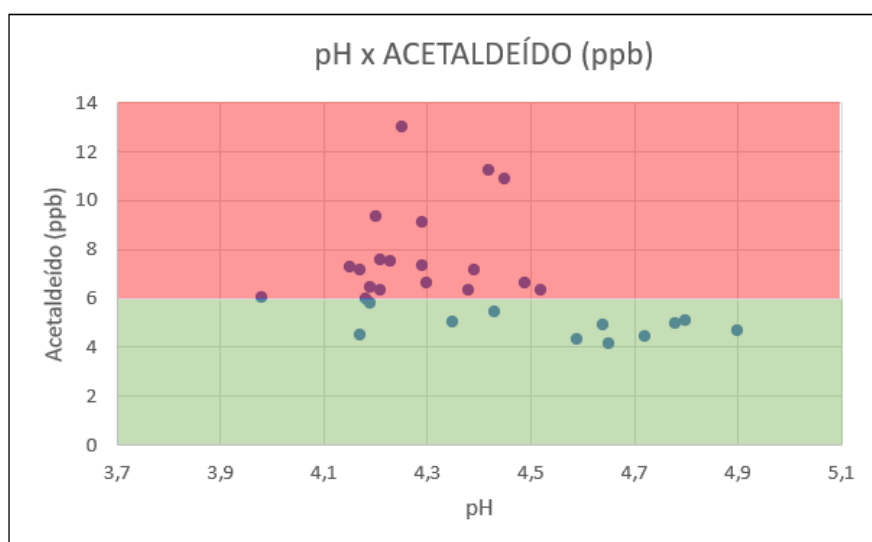
de voláteis. Contudo, nota-se que para o acetato de etila foram obtidos alguns resultados dentro da faixa esperada com o teor de extrato menor que 18°P.

Portanto, a faixa de 17,5 a 18,5°P pode ser revista, tendo um intervalo um pouco menor de até 18°P, favorecendo melhores resultados dos voláteis para o perfil desejado desta cerveja. Além disso, o dióxido de enxofre não sofreu nenhuma influência com relação a quantidade de açúcares presentes.

4.2 EFEITO DO pH

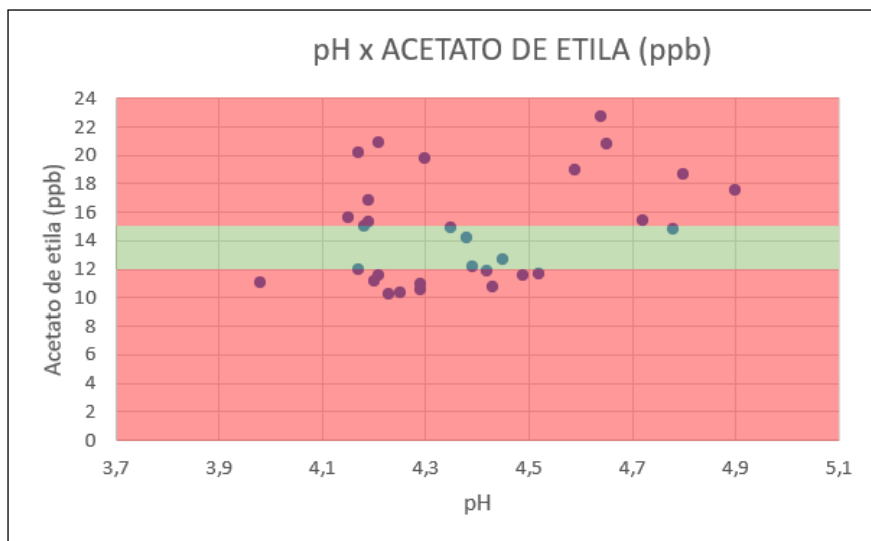
O pH é medido ao final da segunda fase da fermentação, logo antes de se iniciar a centrifugação, porque após esse processo o pH praticamente não tem variações e essa medição servirá como base para o pH do produto acabado, que não pode estar abaixo de 3,8, pois afeta a qualidade da cerveja. Portanto esse parâmetro é medido durante toda a etapa fermentativa, porém a medida mais fundamental é ao fim da fermentação. A Figura 5 mostra a formação das substâncias em função do pH.

Figura 5 (A) - Correlação entre o pH e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



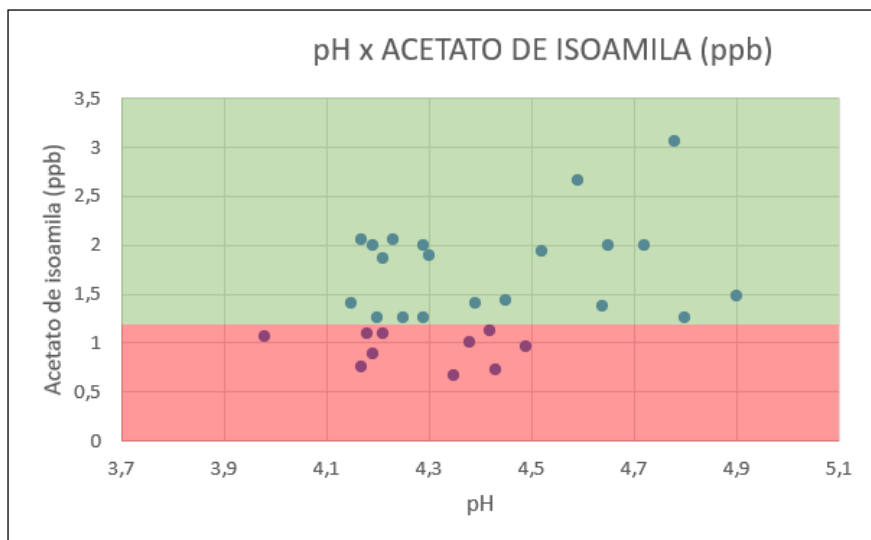
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5 (B) - Correlação entre o pH e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



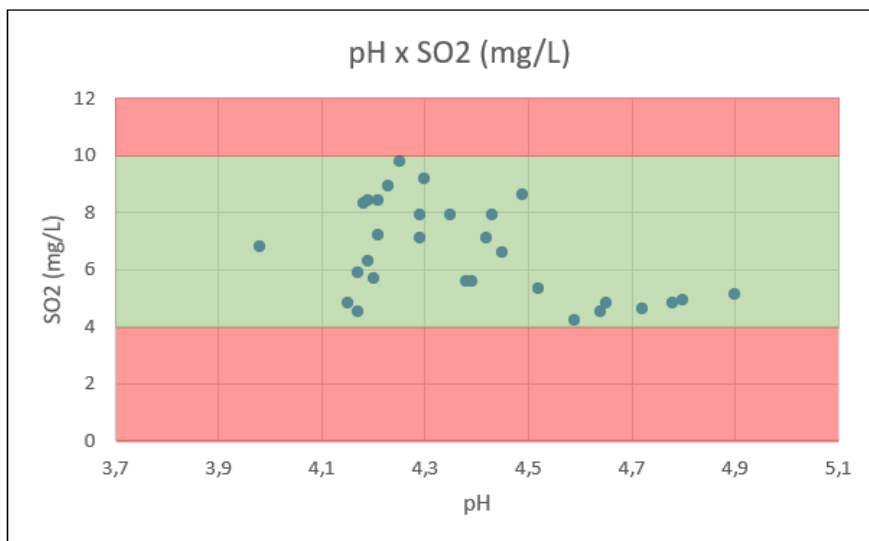
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5 (C) - Correlação entre o pH e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 5 (D) - Correlação entre o pH e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 5 indica que a maior parte das amostras está em uma faixa entre 4,1 a 4,5, porém isso não indica necessariamente que os resultados estão dentro de faixa. Porém existe uma tendência de aumento de acetato de etila e de acetato de isoamila com o aumento do pH, e o inverso acontece com o acetaldeído, que tem uma tendência de queda. Isso só não se aplica para o dióxido de enxofre que se manteve mais estável ao longo da faixa estudada.

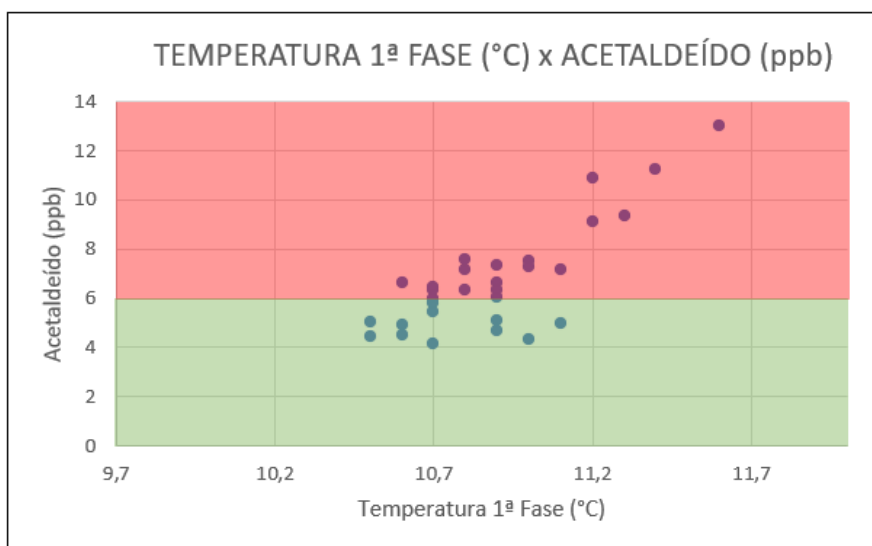
Logo, os gráficos ilustram que o controle do pH é fundamental para diminuir a produção de substâncias indesejadas, como o acetaldeído. Sendo assim, é necessária uma atenção com este parâmetro, e de acordo com as observações do gráfico, a faixa de pH entre 4,5 a 4,8 parece favorecer um perfil sensorial mais limpo, com uma formação mais branda de *off flavors*.

4.3 EFEITO DA TEMPERATURA DE 1ª FASE

A primeira fase tem duração média de 48 horas e a taxa metabólica ainda é mais lenta devido à baixa temperatura, que deve estar entre 10,5 a 11,5 °C. É nesta etapa onde se inicia a atenuação do extrato original e a grande multiplicação celular da levedura, mas à medida que a quantidade de oxigênio

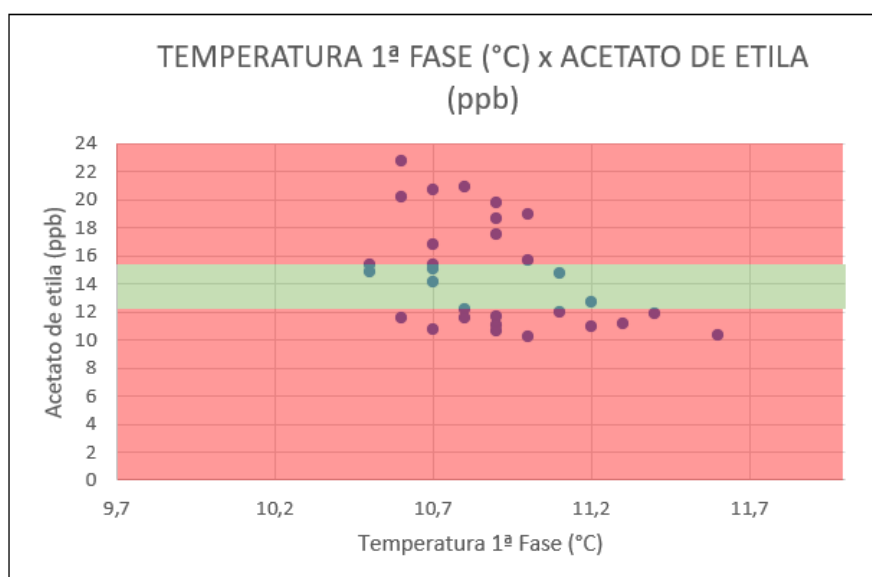
diminui, a rota anaeróbica é favorecida e se inicia a formação de álcool e dióxido de carbono. A Figura 6 representa a formação dos compostos voláteis em função da temperatura desta fase.

Figura 6 (A) - Correlação entre a TPF e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



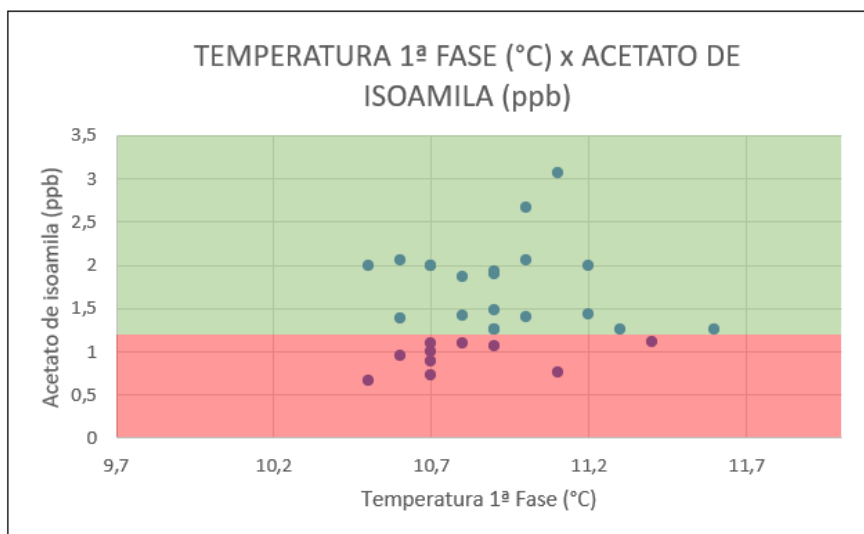
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 (B) - Correlação entre a TPF e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



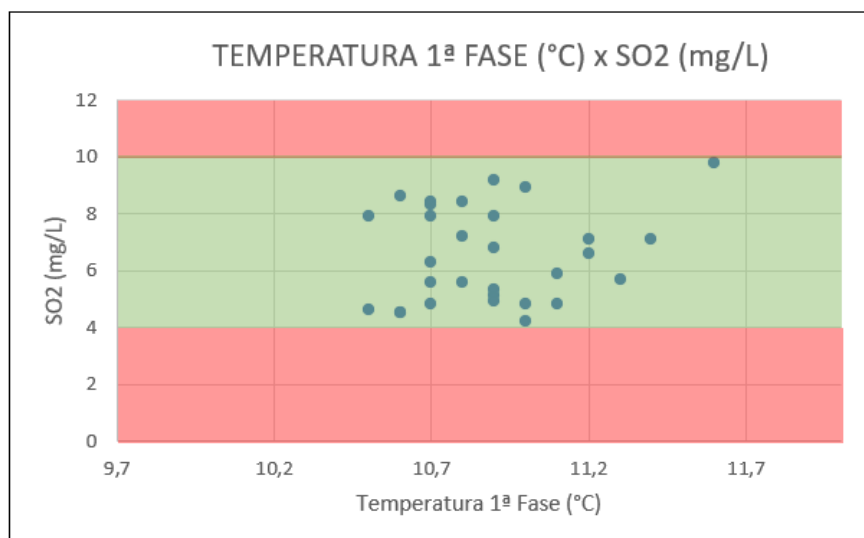
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 (C) - Correlação entre a TPF e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 6 (D) - Correlação entre a TPF e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 6 ilustra que a maioria das amostras está localizada entre a faixa de 10,7 a 11,2 °C, resultando em alguns comportamentos diferentes para cada composto. O acetato de isoamila mostra que o aumento de temperatura favorece sua formação, enquanto o oposto acontece com o acetato de etila de forma bem evidente. Entretanto, essas tendências são mais difíceis de serem detectadas

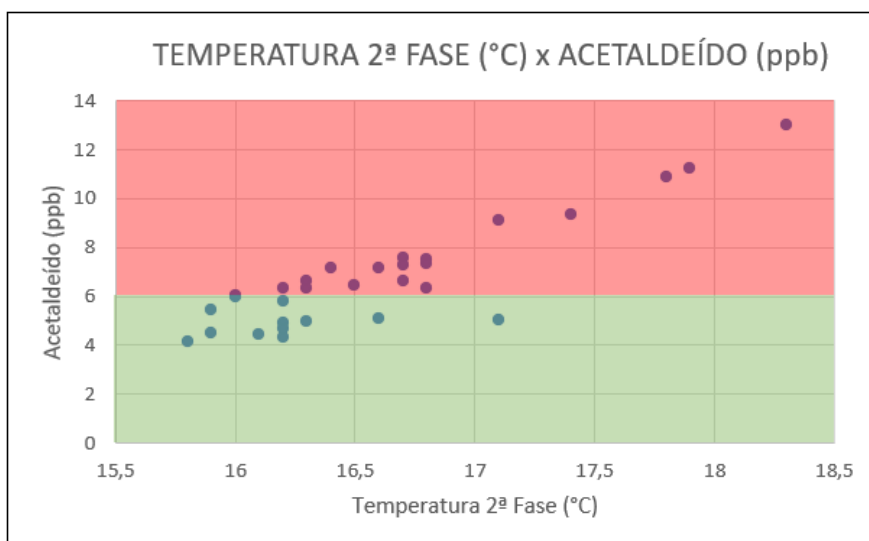
para o dióxido de enxofre e para o acetato de isoamila, que apresentam mais estabilidade.

Portanto, os gráficos indicam que a temperatura de primeira fase tem grande influência nos resultados do acetaldeído, sendo que temperaturas mais baixas são favoráveis para evitar seu acúmulo indesejado. Além disso, o comportamento do acetato de etila indica que os resultados obtidos dentro da faixa desejada para este composto foram observados para temperaturas abaixo de 11,2°C. Logo, a faixa de temperatura entre 10,7 e 11,2 °C seria a melhor para minimizar que esses compostos impactem no perfil sensorial.

4.4 EFEITO DA TEMPERATURA DE 2ª FASE

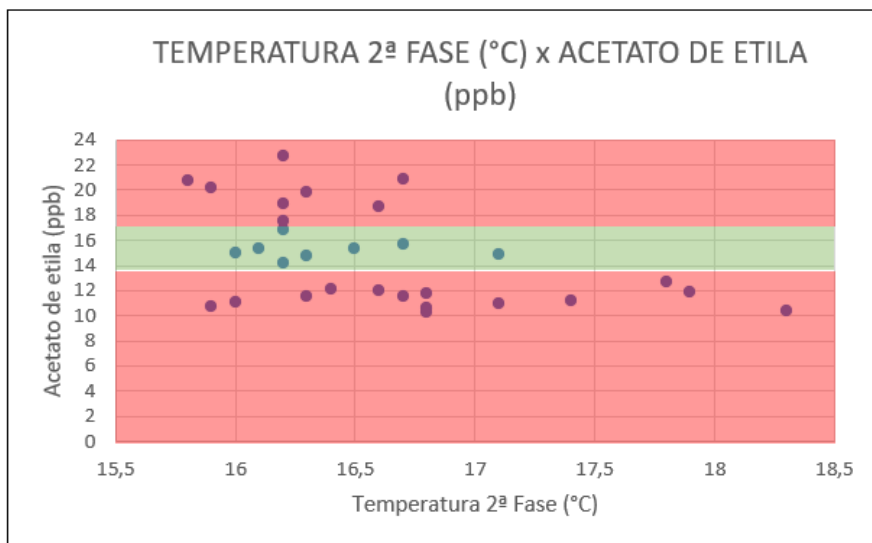
A segunda fase de fermentação é a mais longa e é onde ocorre a maior atenuação do extrato original, a diminuição do pH e a formação mais acentuada de gás carbônico, até que a concentração de diacetil chegue a 100 ppb para marcar o fim da etapa fermentativa. A Figura 7 mostra o comportamento dos voláteis com relação a essa temperatura.

Figura 7 (A): Correlação entre a TSF e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



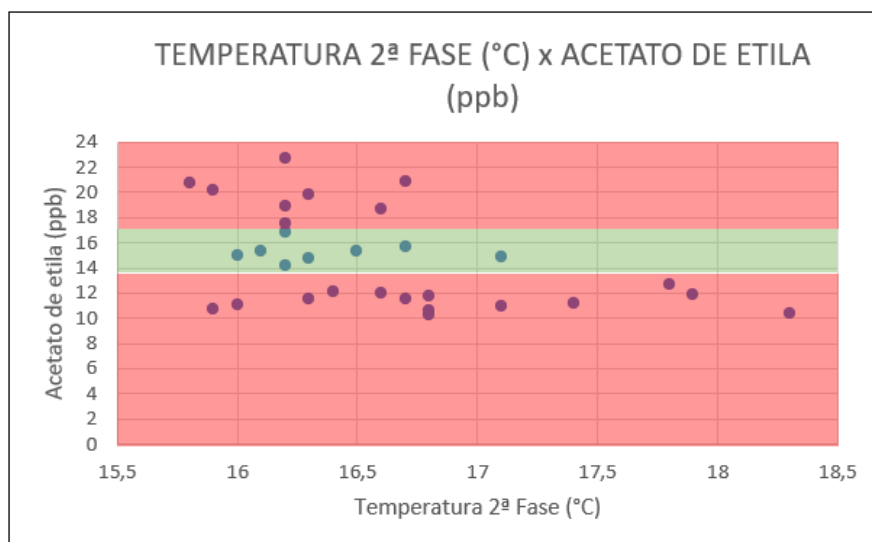
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7 (B): Correlação entre a TSF e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



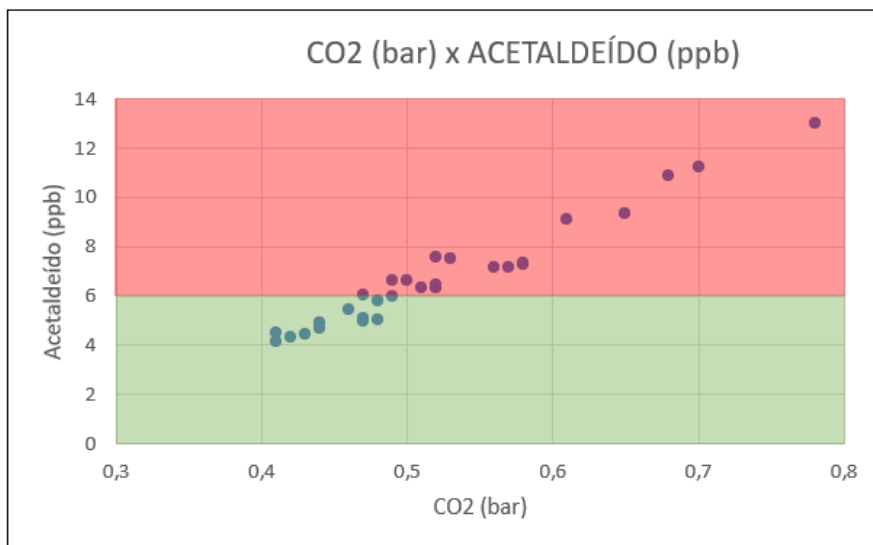
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7 (C): Correlação entre a TSF e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



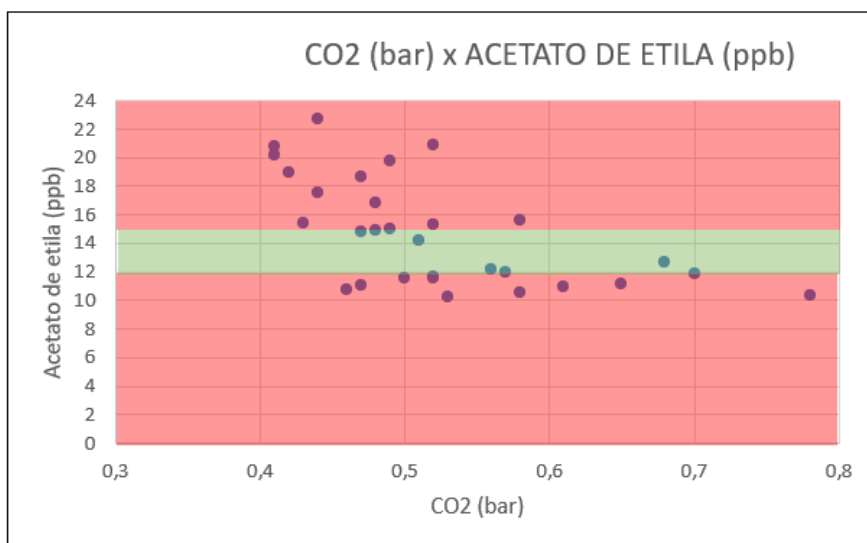
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 (A) – Correlação entre a contra pressão (CO₂) e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



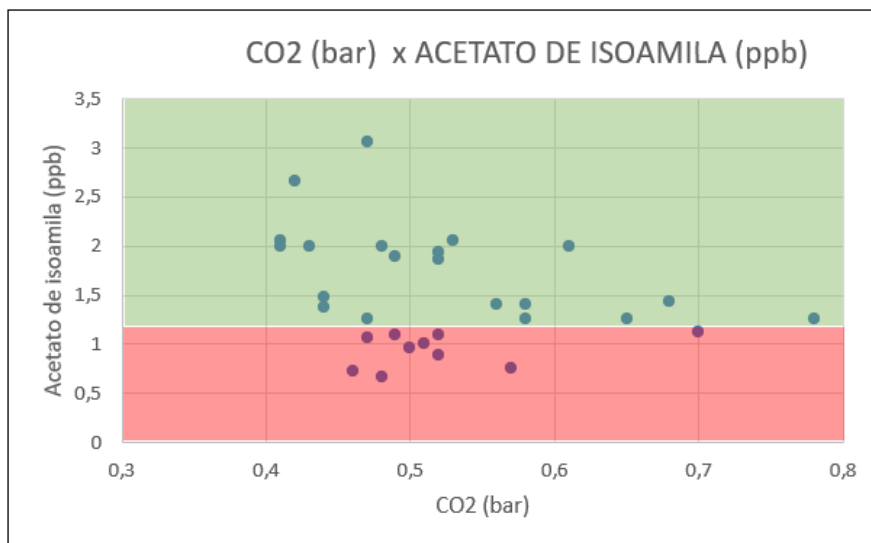
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 (B) – Correlação entre a contra pressão (CO₂) e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



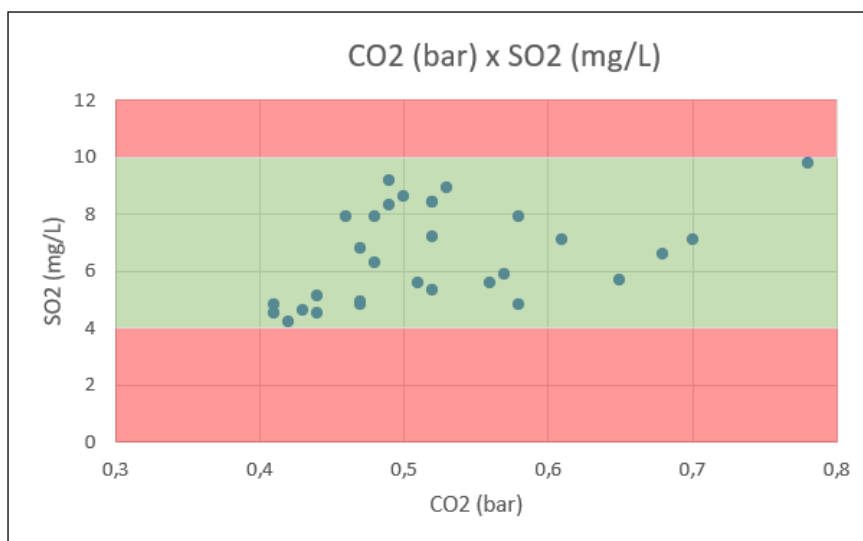
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 (C) – Correlação entre a contra pressão (CO₂) e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8 (D) – Correlação entre a contra pressão (CO₂) e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 8 mostra que o acetaldeído tem uma tendência de aumento conforme a produção de gás aumenta, enquanto o acetato de etila e o acetato de isoamila têm o comportamento contrário, visto que possuem uma tendência de queda com o aumento de gás. O dióxido de enxofre permaneceu mais estável durante todas as fermentações, porém tem uma leve tendência de aumento com

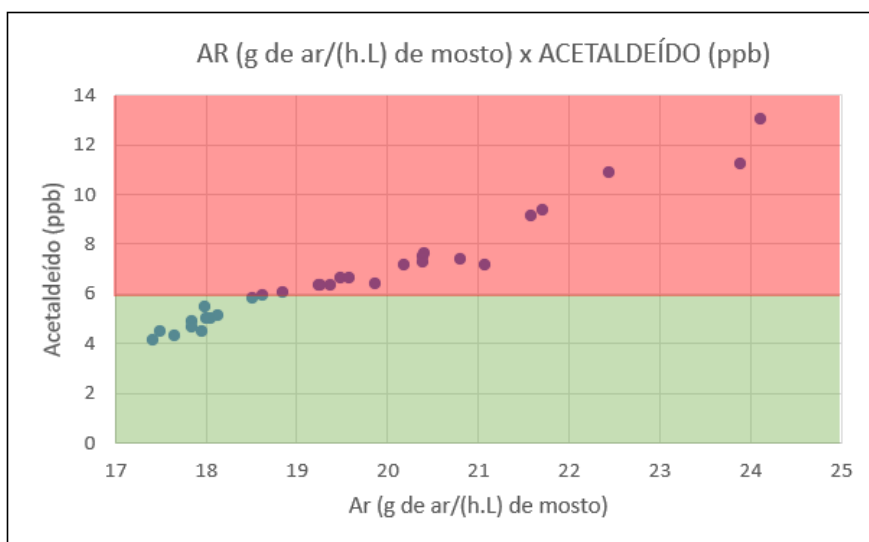
a contrapressão mais elevada.

Dessa forma, os gráficos mostram que maiores concentrações de CO_2 estão associadas a um aumento expressivo de acetaldeído, ultrapassando os limites ideais e indicando uma fermentação mais acelerada. Já o acetato de etila tem em sua grande maioria amostras que estão fora de faixa, e o acetato de isoamila que mesmo tendo uma propensão de queda, tem a maioria dos resultados dentro da faixa esperada. Portanto, uma faixa de trabalho mais baixa entre 0,35 e 0,5 melhoraria os resultados dos voláteis, já que a fermentação seria mais controlada e mais lenta.

4.6 EFEITO DA AERAÇÃO

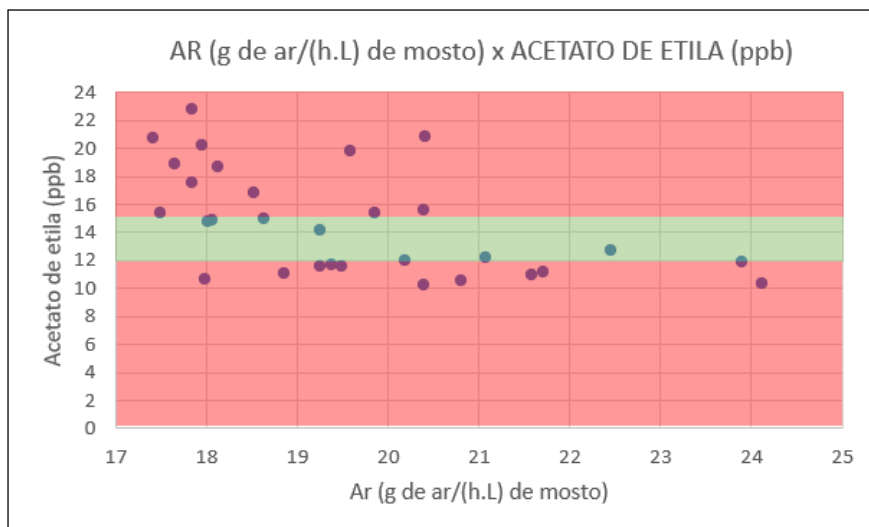
A injeção de ar é feita durante a transferência do mosto para o tanque fermentador, para que o ar se dilua no líquido antes de se iniciar a fermentação. Pois como a levedura é um ser vivo, ela necessita de oxigênio para se multiplicar para que seja possível prosseguir para a rota anaeróbia. A Figura 9 mostra como o ar influencia na formação dos compostos químicos.

Figura 9 (A) - Correlação entre a aeração e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



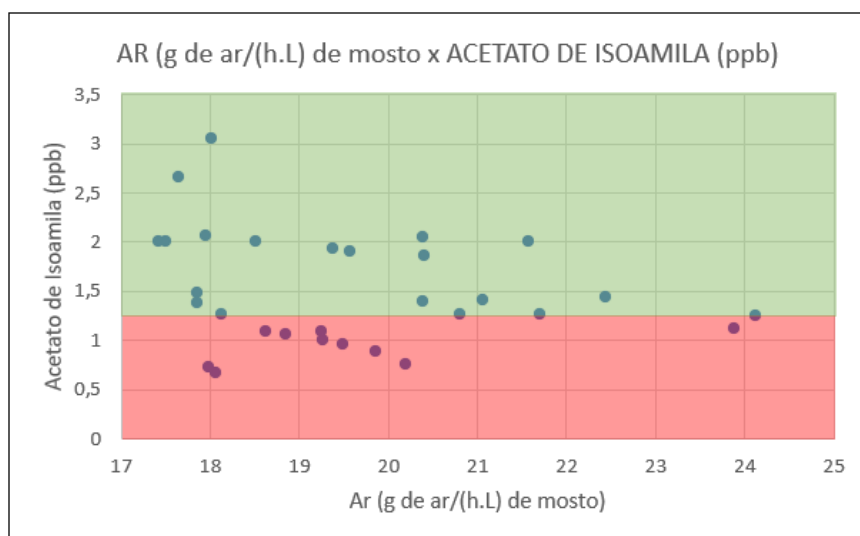
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9 (B) - Correlação entre a aeração e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



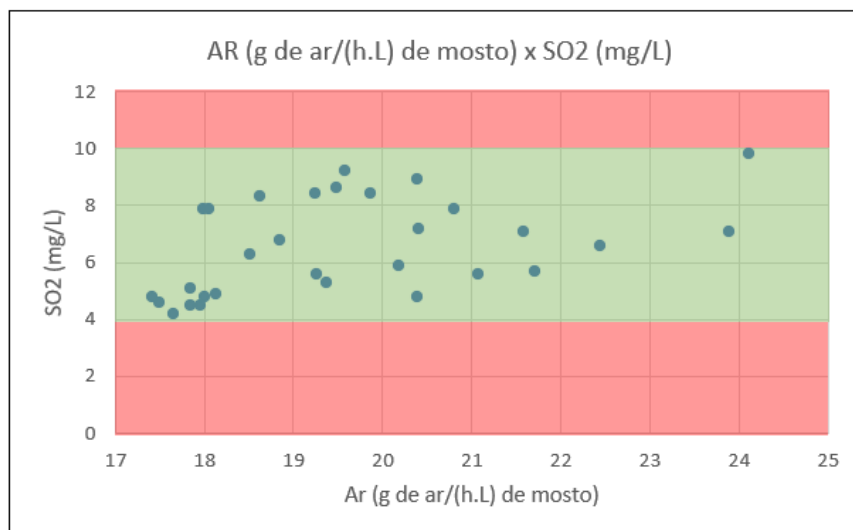
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9 (C) - Correlação entre a aeração e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9 (D) - Correlação entre a aeração e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

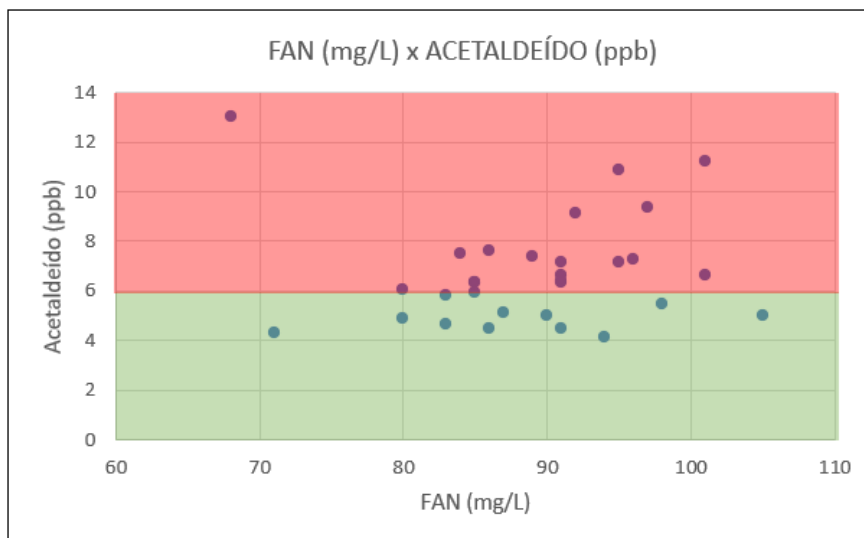
A Figura 9 representa um comportamento muito semelhante aos gráficos de contrapressão, onde as tendências dos compostos voláteis e do dióxido de enxofre se repetem. Novamente se nota uma correlação linear entre a variável analisada e a concentração de acetaldeído, com o maior acúmulo deste composto indesejado. Observa-se também que uma aeração média em torno de 19 a 22 g/(h.L) trouxe melhores resultados de acetato de etila e acetato de isoamila, embora os resultados de acetaldeído estejam fora de faixa.

Sendo assim, a aeração também se mostrou uma condição crítica de processo, e é válido utilizar uma aeração média para controlar alguns voláteis, principalmente o acetato de etila e o acetato de isoamila, já que o dióxido de enxofre permaneceu controlado.

4.7 EFEITO DO FAN

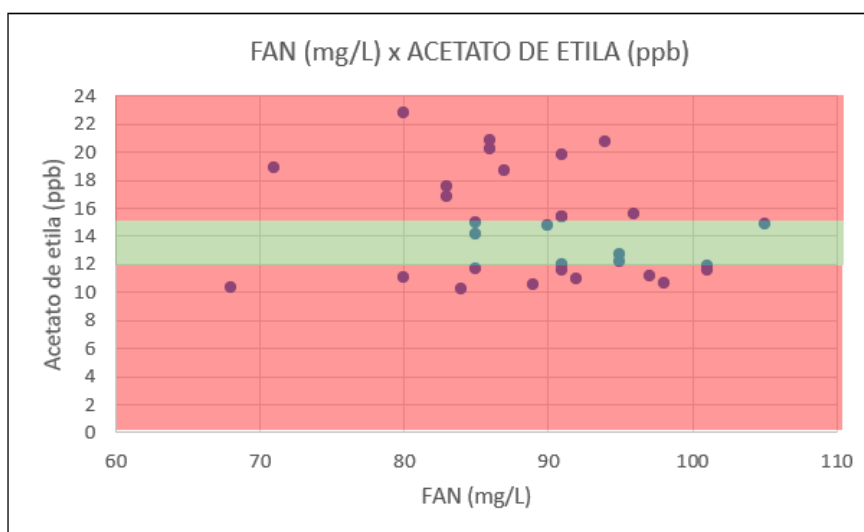
O FAN é a fonte mais abundante de nitrogênio para a levedura, pois sua composição consiste em aminoácidos e pequenos peptídeos. Além disso, é importante garantir uma quantidade adequada dessas substâncias, pois sua ausência pode comprometer a síntese proteica e o crescimento celular. A Figura 10 apresenta a relação entre as concentrações residuais desses compostos proteicos após a fermentação e a produção de substâncias voláteis.

Figura 10 (A) - Correlação entre o FAN e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



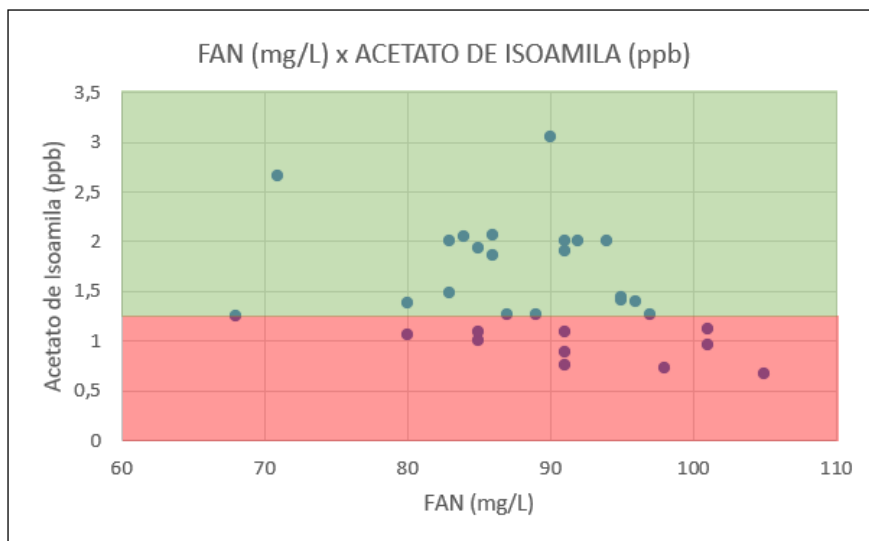
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10 (B) - Correlação entre o FAN e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



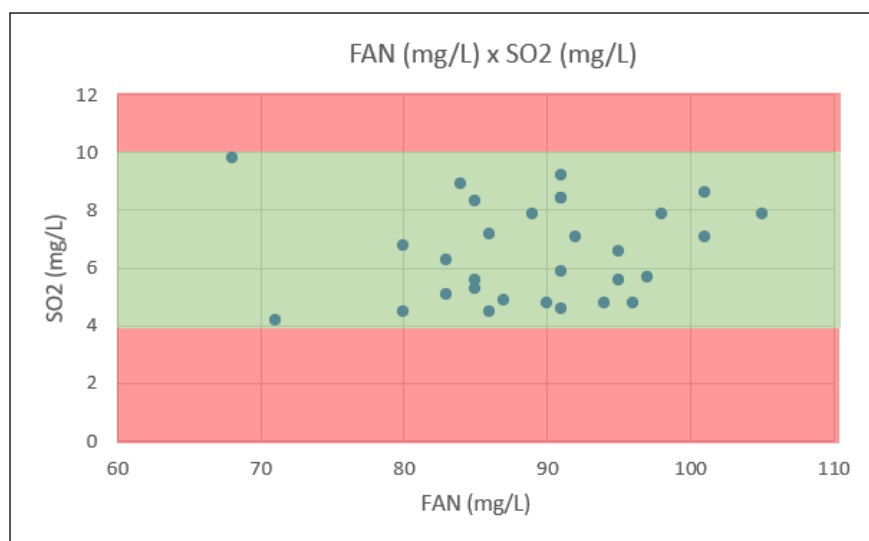
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10 (C) - Correlação entre o FAN e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10 (D) - Correlação entre o FAN e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 10 indica que concentrações mais altas de FAN não garantem menor formação de compostos voláteis. O acetaldeído, por sua vez, têm uma grande dispersão entre os resultados, com diversos valores acima da faixa ideal, sugerindo uma tendência em que o excesso de FAN pode favorecer sua formação. Já o acetato de etila também aparece, em sua maioria, fora da faixa

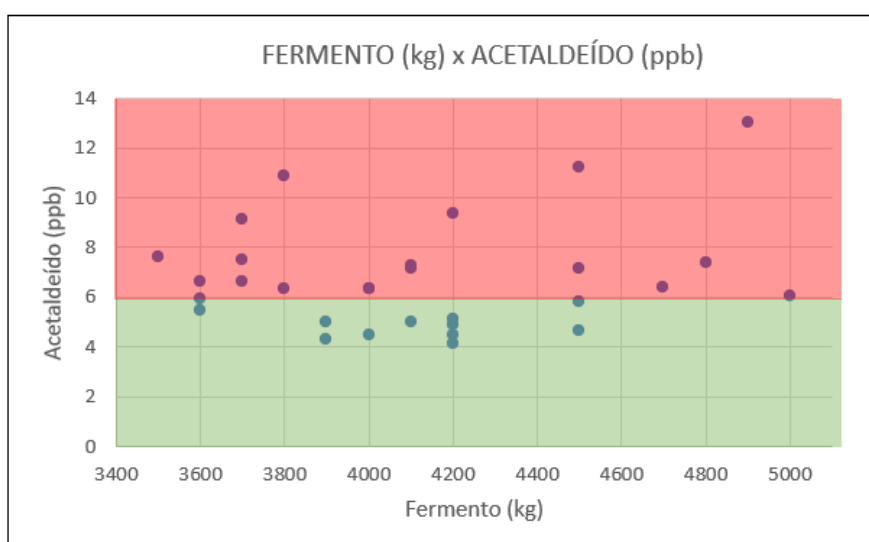
desejada, independentemente do nível de FAN, o que pode indicar que outra condição de processo tenha mais influência sobre seu resultado do que o FAN. Enquanto isso, o acetato de isoamila apresenta uma leve tendência de queda com um FAN mais elevado e, por fim, dióxido de enxofre se mantém majoritariamente dentro da faixa verde, indicando controle mais estável.

Assim, embora o FAN seja essencial para o metabolismo das leveduras, seu excesso não garante melhor qualidade sensorial, já que, individualmente, ele não apresenta tendências claras de correlação com a formação dos voláteis analisados.

4.8 EFEITO DA DOSAGEM DE FERMENTO

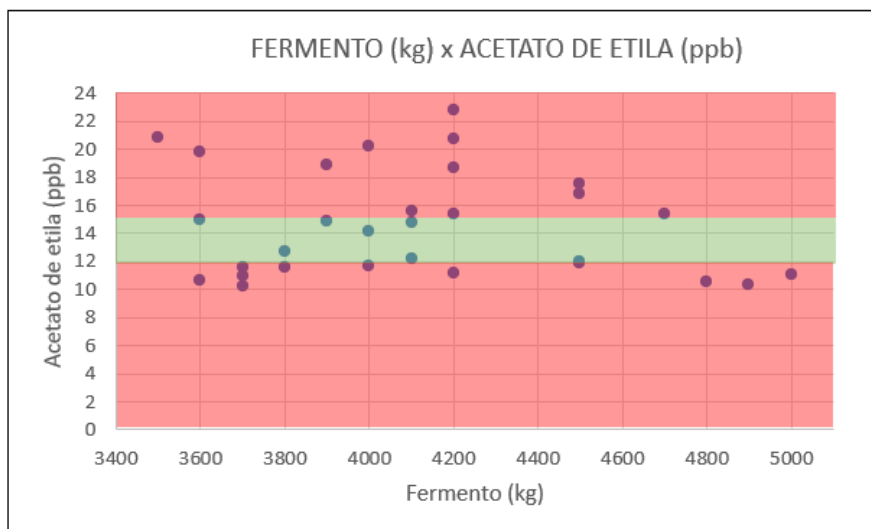
A dosagem de fermento acontece durante o enchimento do fermentador, juntamente com o enchimento de mosto, garantindo que ocorra a homogeneização da mistura. O fermento fica armazenado nas tinas antes de ser dosado, para que a viabilidade das células se mantenha durante o processo. A Figura 11 ilustra como o fermento afetou a formação dos compostos voláteis.

Figura 11 (A) - Correlação entre a DF e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



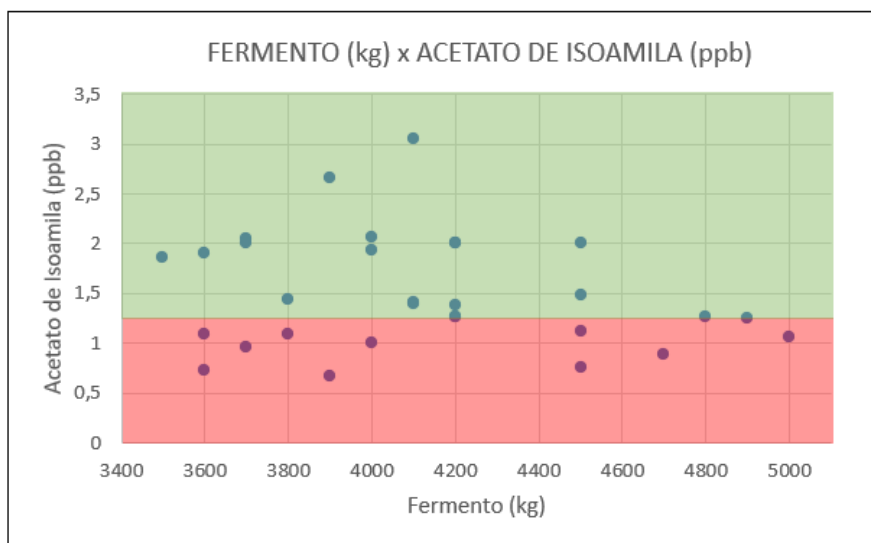
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 11 (B) - Correlação entre a DF e o acetato de etila na fermentação das cervejas.



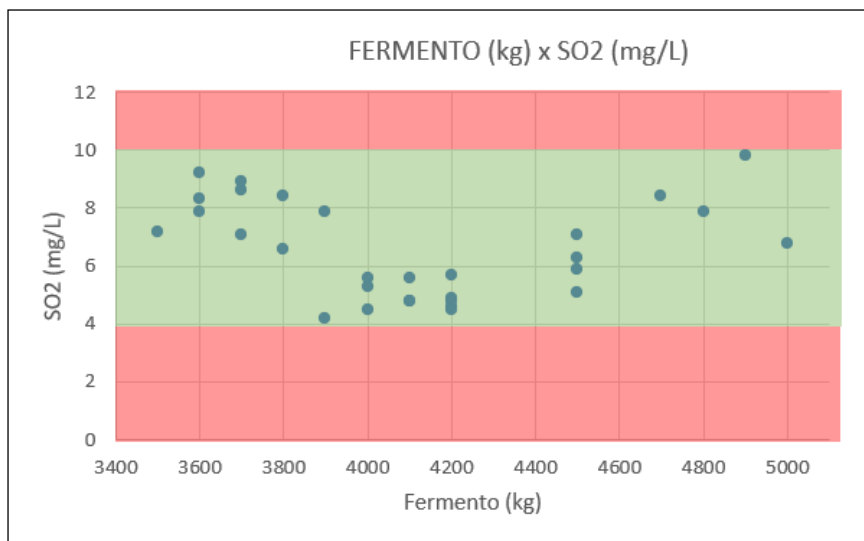
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 11 (C) - Correlação entre a DF e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 11 (D) - Correlação entre a DF e o dióxido de enxofre na fermentação das cervejas



Fonte: Elaborado pelo autor.

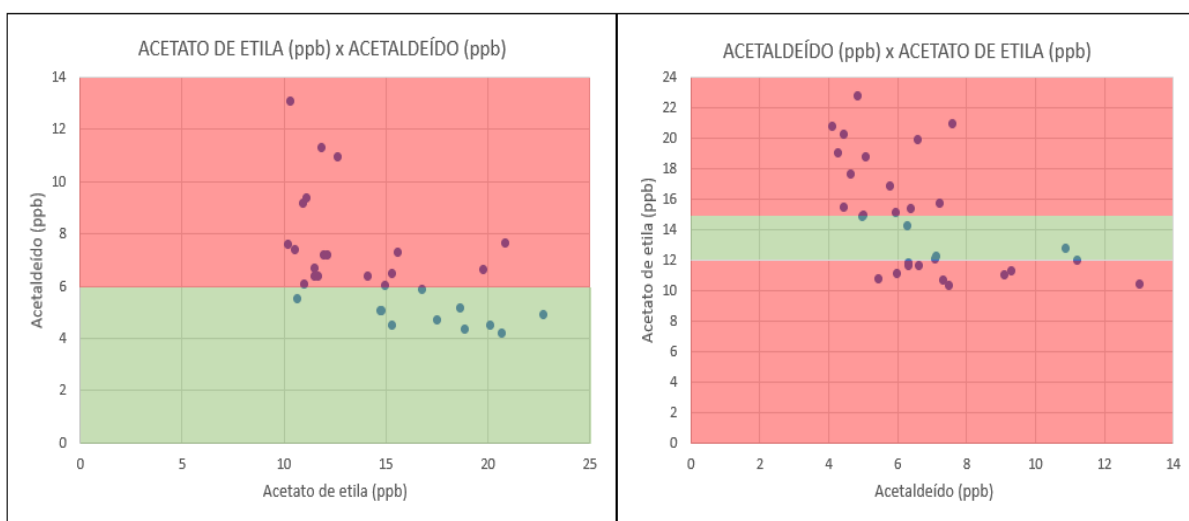
A Figura 11 indica que a massa de fermento não está claramente associada à redução ou aumento dos compostos, visto que os dados estão dispersos. O acetaldeído apresenta valores elevados acima da faixa desejada, especialmente com maior quantidade de fermento, sugerindo que o excesso pode gerar estresse celular ou fermentações rápidas. O acetato de etila também ocorre majoritariamente em níveis elevados, porém existe uma leve tendência de queda com o aumento do fermento. Essa mesma análise é válida para o acetato de isoamila, que por outro lado teve mais amostras dentro de faixa, enquanto que o dióxido de enxofre permaneceu bem distribuído dentro da faixa aceitável, indicando que esse parâmetro não foi significativamente impactado pela variação de fermento. Assim, apenas aumentar a quantidade de fermento não garante melhor desempenho sensorial, podendo inclusive acentuar certos desvios.

Diferentemente dos outros parâmetros operacionais analisados, não é possível estabelecer faixas para sua dosagem, visto que a quantidade de fermento no tanque fermentador depende da disponibilidade, o que ficou evidente nas amostras coletadas, que tem um intervalo muito grande na massa de leveduras dosadas.

4.9 CORRELAÇÕES ENTRE A PRODUÇÃO DOS DIFERENTES VOLÁTEIS

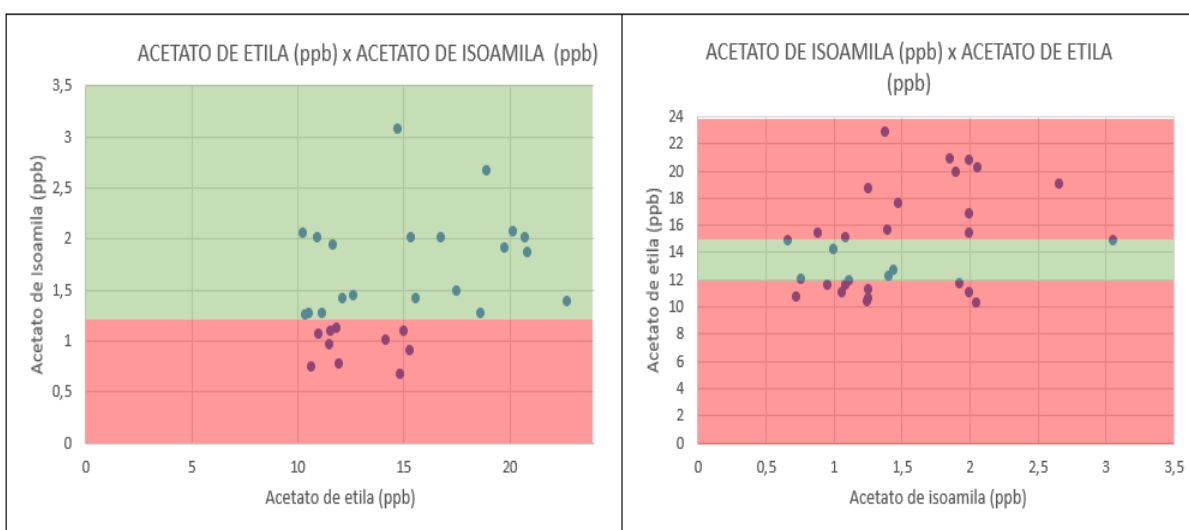
Diferente das análises da influência das condições de processo, a análise cruzada entre os compostos produzidos serve para verificar se existe alguma correlação entre a produção dos mesmos, e assim observar possíveis padrões de produção combinada destes compostos.

Figura 12 (A) – Correlações entre o acetato de etila e o acetaldeído na fermentação das cervejas.



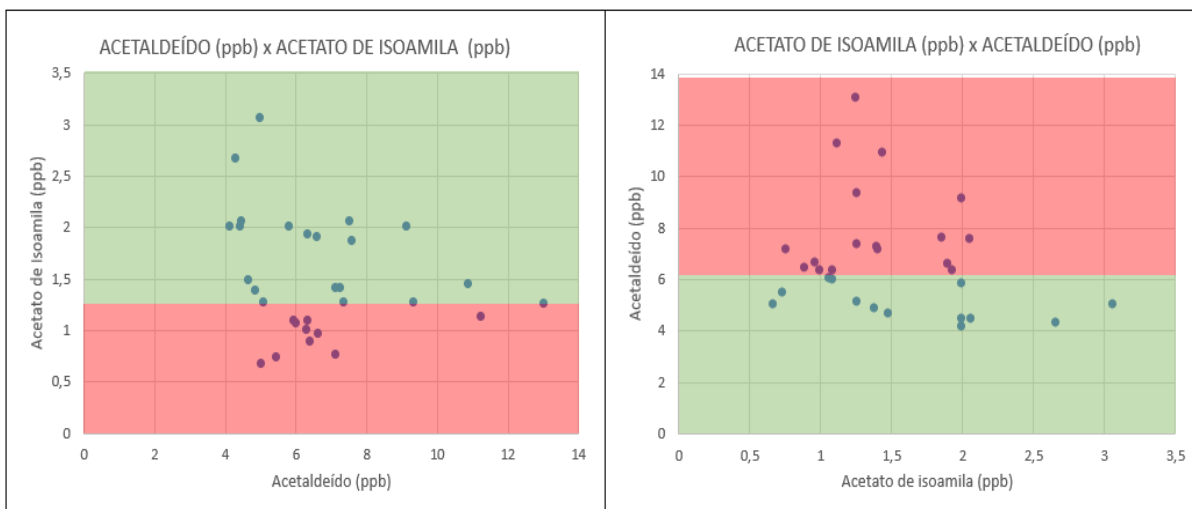
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 12 (B) – Correlações entre o acetato de etila e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 12 (C) – Correlações entre o acetaldeído e o acetato de isoamila na fermentação das cervejas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 12 revela correlações importantes entre os compostos voláteis. A primeira delas exibe uma tendência de queda do acetaldeído com o crescimento do acetato de etila, sendo o mesmo válido para o inverso dessa correlação, indicando que alguns dos parâmetros possam estar elevados, como a temperatura ou gás carbônico. Em contrapartida, o acetato de isoamila tende a diminuir com o aumento de acetaldeído e acetato de etila. Além disso, os dados mostram que o acetato de isoamila permanece em sua maioria dentro da faixa verde, enquanto acetato de etila e acetaldeído frequentemente ultrapassam os limites aceitáveis. Isso evidencia a necessidade de controle integrado dos parâmetros fermentativos e a revisão das faixas operacionais.

4.10 COMPARAÇÃO CONJUNTA DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO

Para realizar uma comparação combinada de todas as variáveis de processo analisadas e sua influência na formação dos compostos voláteis foi utilizado o gráfico do tipo “Radar”.

Inicialmente, para fazer este gráfico, foi necessário realizar um ajuste nos dados devido a diferença de escala entre eles. Portanto, foi realizada uma normalização máximo-mínimo nas condições de processo para identificar padrões em fermentações boas ou ruins, ou seja, fermentações que tiveram ou

não um perfil sensorial mais adequado para este tipo cerveja. Essa normalização preserva a proporcionalidade entre as amostras, sendo possível avaliá-las em uma mesma escala (HAN; KAMBER; PEI, 2011). O Quadro 3 ilustra como estão os valores normalizados, possibilitando a construção do gráfico tipo Radar.

Quadro 3 - Condições de processo coletadas normalizadas.

Amostra	EO (°P)	pH	TPF (°C)	TSF (°C)	CP (bar)	AR (g/(h.L))	FAN (mg/L)	DF (kg)
1	0,41	0,21	0,09	0,04	0,00	0,08	0,49	0,33
2	0,43	0,23	0,18	0,16	0,19	0,16	0,41	0,67
3	0,14	0,25	0,27	0,36	0,30	0,45	0,49	0,00
4	0,64	0,22	0,18	0,08	0,22	0,18	0,46	0,07
5	0,55	0,27	0,45	0,40	0,32	0,44	0,43	0,13
6	0,68	0,35	0,36	0,20	0,22	0,32	0,62	0,07
7	0,68	0,34	0,64	0,52	0,54	0,62	0,65	0,13
8	0,50	0,25	0,27	0,20	0,30	0,27	0,62	0,20
9	0,34	0,43	0,18	0,16	0,27	0,27	0,46	0,33
10	0,50	0,18	0,45	0,36	0,46	0,44	0,76	0,40
11	0,00	0,21	0,55	0,32	0,43	0,41	0,62	0,67
12	1,00	0,24	0,73	0,64	0,65	0,64	0,78	0,47
13	0,50	0,00	0,36	0,08	0,16	0,21	0,32	1,00
14	0,77	0,29	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,93
15	0,56	0,48	0,82	0,84	0,78	0,97	0,89	0,67
16	0,73	0,34	0,36	0,40	0,46	0,50	0,57	0,87
17	0,42	0,23	0,18	0,28	0,30	0,36	0,62	0,80
18	0,46	0,49	0,18	0,04	0,14	0,09	0,81	0,07
19	0,36	0,55	0,09	0,36	0,24	0,31	0,89	0,13
20	0,32	0,40	0,00	0,52	0,19	0,10	1,00	0,27
21	0,19	0,51	0,64	0,80	0,73	0,75	0,73	0,20
22	0,36	0,45	0,27	0,24	0,41	0,54	0,73	0,40
23	0,19	0,72	0,09	0,16	0,08	0,06	0,32	0,47
24	0,07	0,80	0,00	0,12	0,05	0,01	0,62	0,47

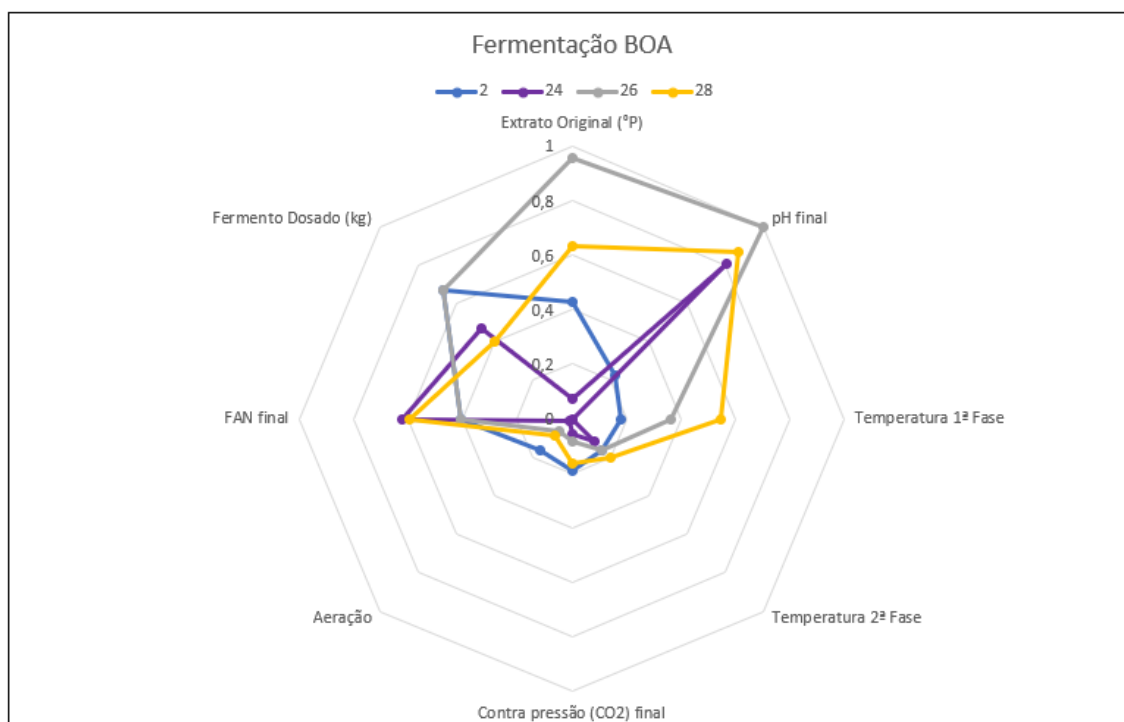
Continuação do Quadro 3

25	0,48	0,73	0,18	0,00	0,00	0,00	0,70	0,47
26	0,96	1,00	0,36	0,16	0,08	0,06	0,41	0,67
27	0,72	0,89	0,36	0,32	0,16	0,11	0,51	0,47
28	0,64	0,87	0,55	0,20	0,16	0,09	0,59	0,40
29	0,52	0,66	0,45	0,16	0,03	0,03	0,08	0,27
30	0,65	0,59	0,36	0,40	0,30	0,29	0,46	0,33

Fonte: Elaborado pelo autor.

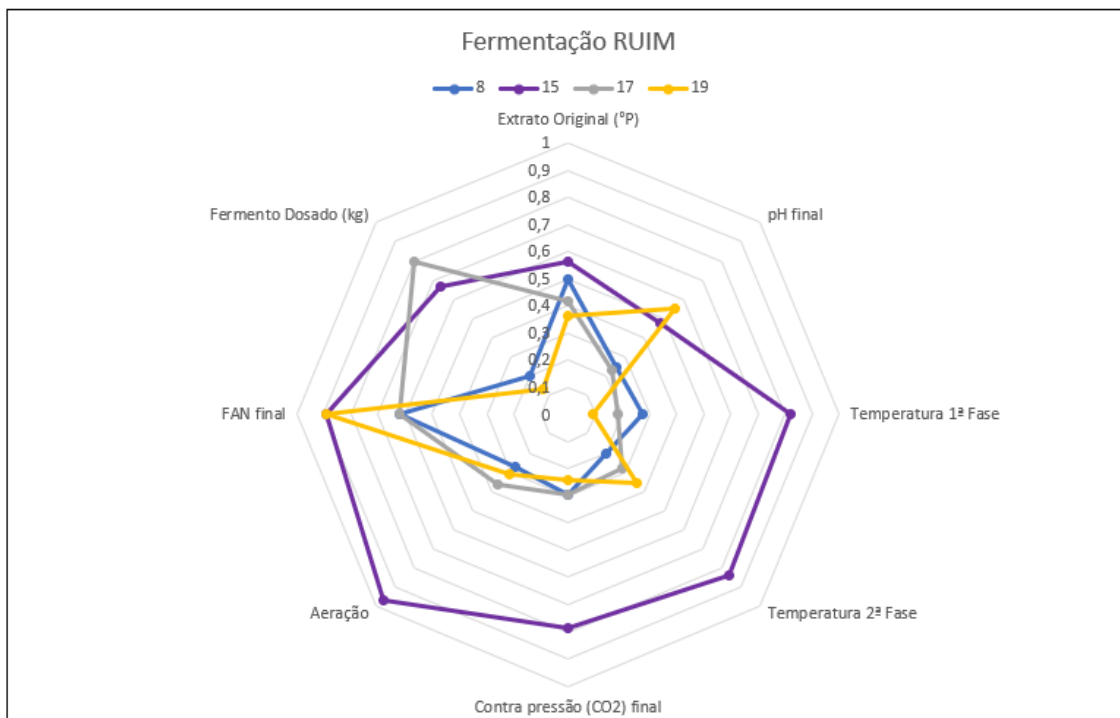
Dessa forma, foram escolhidas quatro fermentações consideradas boas (contendo compostos voláteis dentro de faixa) e quatro consideradas ruins (contendo compostos fora de faixa), para verificar possíveis combinações de parâmetros que possam ter um impacto positivo ou negativo no perfil de voláteis da cerveja. A Figura 13 mostra o resultado dos gráficos tipo radar, sendo a linha vermelha contendo o limite inferior da faixa estabelecida e a linha verde contendo o limite superior da mesma faixa.

Figura 13 (A) - Comparação entre fermentações que apresentaram um perfil sensorial mais adequado (BOA).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13 (B) - Comparação entre fermentações que apresentaram um perfil sensorial menos adequado (RUIM).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise comparativa entre fermentações consideradas boas e ruins revela padrões operacionais distintos que impactam diretamente a formação de compostos voláteis. De acordo com Kunze (2014) e Tokpohozin, Fischer e Becker (2019), variáveis como temperatura, oxigenação, quantidade de levedura e níveis de FAN são determinantes na síntese de ésteres e aldeídos durante a fermentação.

Nos gráficos, observa-se que as fermentações classificadas como ruins apresentaram valores mais elevados de temperatura da 2ª fase, aeração e contrapressão. Esses fatores favorecem a formação excessiva de acetaldeído e acetato de etila, como mencionado por Kunze (2014) e Tokpohozin, Fischer e Becker (2019), que apontam que temperaturas elevadas e aeração excessiva estimulam a produção de compostos indesejados por sobrecarga metabólica da levedura.

Por outro lado, as fermentações boas mostram parâmetros mais equilibrados, especialmente em relação à temperatura, oxigenação e contrapressão, o que favorece uma fermentação mais estável, com adequada formação de ésteres frutados (como o acetato de isoamila) e menor acúmulo de aldeídos.

Portanto, os dados reforçam que o controle rigoroso dos parâmetros fermentativos é essencial para a qualidade sensorial final da cerveja, sendo coerente com os princípios clássicos da fermentação descritos na literatura cervejeira. Isso evidencia que algumas faixas de processo podem ser revistas para terem menos impacto negativo no perfil de voláteis da cerveja.



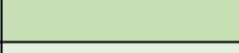
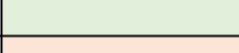




A última análise foi feita utilizando o número de Pearson, que é uma medida estatística que indica a força e a direção da relação linear entre duas variáveis, onde o número mais próximo de +1 é mais diretamente proporcional, enquanto o número mais próximo de -1 é mais inversamente proporcional (MONTGOMERY; RUNGER, 2016). A Figura 14 representa como o gráfico tipo *heatmap* (mapa de calor) se comporta para analisar a correlação entre as variáveis do processo e a formação dos compostos voláteis. De forma que a escala de cores foi feita apenas para que os resultados ficassem mais visuais e com tons diferentes de cores.

Figura 14 (A) – Heatmap para a correlação entre as variáveis do processo e a formação dos voláteis.

Parâmetro/Volátil	Acetaldeído (ppb)	Acetato de etila (ppb)	Acetato de Isoamila (ppb)	Dióxido de enxofre (mg/L)
Extrato Original (°P)	0,17	-0,20	0,12	0,14
pH final	-0,37	0,34	0,34	-0,49
Temperatura 1ª Fase (°C)	0,80	-0,43	0,10	0,16
Temperatura 2ª Fase (°C)	0,90	-0,46	-0,20	0,36
Contra pressão (bar)	0,98	-0,59	-0,28	0,42
Aeração (g de ar/hL de mosto)	0,98	-0,55	-0,23	0,44
FAN final	0,03	-0,22	-0,35	0,09
Fermento Dosado (kg)	0,16	-0,17	-0,20	-0,09

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14 (B) – Escalas de cor do gráfico *Heatmap*.

Valores	Escala de cor
(1 a 0,7)	
(0,7 a 0,4)	
(0,4 a 0,1)	
(0,1 a 0)	
(0 a -0,1)	
(-0,1 a -0,4)	
(-0,4 a -0,7)	
(-0,7 a -1)	

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 14 confirma a influência direta de variáveis operacionais sobre a formação de compostos voláteis. O acetaldeído, um dos principais marcadores negativos de fermentações indesejadas, apresenta correlação fortemente positiva com temperatura da 1ª e 2ª fase, contrapressão e aeração. De acordo com Kunze (2014), esse comportamento destaca que o acúmulo de oxigênio e a elevação da temperatura durante a fermentação levam à sobrecarga metabólica da levedura, comprometendo a conversão de acetaldeído em etanol.

Por sua vez, o acetato de etila apresentou correlação negativa com os mesmos parâmetros (temperatura, aeração e gás carbônico), sugerindo que o ambiente estressante pode não apenas estimular o acetaldeído, mas também inibir a formação equilibrada de ésteres. De acordo com Tolpohozin, Fischer e Becker (2019), essa desproporcionalidade é explicada pelo desbalanço redox e o estresse oxidativo que impactam a biossíntese de ésteres durante a fermentação.

Já o acetato de isoamila, relacionado a aromas frutados desejáveis, apresentou correlações predominantemente fracas e negativas com a maioria dos parâmetros, especialmente com o FAN final, sugerindo possível consumo limitado de aminoácidos precursores. Já o dióxido de enxofre, utilizado como antioxidante e conservante, apresentou correlações positivas moderadas com contrapressão e aeração, indicando que condições mais oxigenadas podem levar à maior geração de compostos protetores.

Esses dados quantitativos reforçam, portanto, a importância do ajuste fino dos parâmetros fermentativos para garantir a formação de compostos voláteis desejáveis (dentro de faixa) e evitar sua acumulação. Dessa forma, o Quadro 4 resume o que foi feito neste trabalho, indicando quais são as melhores faixas de operação para a produção do tipo de cerveja avaliada.

Quadro 4 – Faixas de operação revisadas para se obter um perfil sensorial desejado.

Parâmetro	Faixa (Antiga)	Faixa (Nova)
Extrato Original (°P)	17,50 - 18,50	17,50 - 18,00
pH final	4,00 - 5,00	4,50 - 4,80
Temperatura de 1ª Fase (°C)	10,50 - 11,20	10,70 - 11,20
Temperatura de 2ª Fase (°C)	16,00 - 18,00	16,00 - 17,00
Contra Pressão (bar)	0,40 - 0,70	0,35 - 0,50
Aeração (g de ar/hl de mosto)	18,00 – 23,00	19,00 – 22,00
FAN final (mg/L)	60,00 a 100,00	-
Fermento Dosado (kg)	Disponibilidade	Disponibilidade

Fonte: Elaborado pelo autor.

O FAN não necessitou de nenhum ajuste e a quantidade de fermento (kg) varia de acordo com o volume de mosto. Por isso, para estes parâmetros não houve necessidade de se pré-estabelecer nenhum tipo de faixa.

5. CONCLUSÃO

O estudo dos subprodutos da fermentação é algo muito importante para a qualidade final do produto e para harmonizar com o tipo de cerveja a ser produzida. Por isso, este trabalho avaliou como algumas condições de processo podem impactar nessa formação de compostos químicos voláteis.

Com base nessas observações, sugere-se que algumas faixas operacionais sejam revistas para que o processo fermentativo esteja mais desacelerado e equilibrado, evitando assim a formação das substâncias indesejadas para este perfil de cerveja.

Como sugestões para trabalhos futuros, seria importante avaliar outros parâmetros operacionais adjacentes que não foram avaliados neste trabalho, como por exemplo as condições do processo de brassagem e a qualidade da matéria-prima.

6. REFERÊNCIAS

AZEREDO, D. R. P. **Síntese e degradação de glicogênio e viabilidade de levedura cervejeira**. 1999. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

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

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União: seção 1**, Brasília, DF, ano 146, n. 107, p. 3, 5 jun. 2009. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm. Acesso em: 2 abr. 2025.

EBLINGER, H. M. (Ed.). **Handbook of brewing: processes, technology, markets**. Weinheim: Wiley-VCH, 2009.

EMBRAPA. **Indicações técnicas para a produção de cevada cervejeira nas safras 2023 e 2024**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2023. 32 p. (Embrapa Trigo. Documentos, 203). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1153987/1/IndicacoesTecnicasCevada-Sa-fra2023-2024-.pdf>. Acesso em: 5 abr. 2025.

ESTADÃO. Brasil figura em ranking de países que mais consomem cerveja no mundo; veja lista. **Estadão**, 10 abr. 2024. Disponível em: <https://www.estadao.com.br/paladar/radar/brasil-figura-em-ranking-de-paises-que-mais-conso-mem-cerveja-no-mundo-veja-lista/#:~:text=J%C3%A1%20em%20rela%C3%A7%C3%A3o%20ao%20con-sumo,6%25%20em%20rela%C3%A7%C3%A3o%20a%202021>. Acesso em: 4 abr. 2025.

FEW, Stephen. **Show me the numbers: designing tables and graphs to enlighten**. 2. ed. Burlingame: Analytics Press, 2012.

FLORÊNCIO, Fábio Ferreira. **Produção de cervejas de alta fermentação utilizando linhagens indígenas de *Saccharomyces cerevisiae***. 2022. 98 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2022.

G1. Consumo de cerveja deve voltar a crescer no Brasil em 2024, mas bebida deve ficar mais cara. **G1**, 8 nov. 2024. Disponível em: <https://g1.globo.com/economia/noticia/2024/11/08/consumo-de-cerveja-deve-voltar-a-crescer-no-brasil-em-2024-mas-bebida-deve-ficar-mais-cara.ghtml>. Acesso em: 4 abr. 2025.

HAN, Jiawei; KAMBER, Micheline; PEI, Jian. **Data mining: concepts and techniques**. 3. ed. San Francisco: Morgan Kaufmann, 2011.

HIERONYMUS, S. **Lúpulo: guia prático para o aroma, amargor e cultivo de lúpulos**. 2. ed. Belo Horizonte: Krater, 2020.

KLEIN, C.; OLSSON, L.; NIELSEN, J. B. Glucose control in *Saccharomyces cerevisiae*: the role of MIG1 on metabolic functions. **Microbiology (United Kingdom)**, [S.l.], v. 144, n. 1, p. 13–24, 1998.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. 5. ed. Berlin: VLB Berlin, 2014.

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

McGOVERN, P.E. **Uncorking the past: the quest for wine, beer, and other alcoholic beverages**. Berkeley: University of California Press, 2009.

MONTGOMERY, D.C.; RUNGER, G. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

PALMER, J.; KAMINSKI, C. **Water: a comprehensive guide for brewers**. Boulder: Brewers Publications, 2013.

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

ROBINOW, C.; JOHNSON, B. Yeast cytology: an overview. In: ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. (Ed.). **The yeasts**. 2. ed. v. 4. London: Academic Press, 1991.

SAERENS, S. M. G. *et al.* Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbial Biotechnology**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 165–177, 2010.

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

SILVA, Carlos Henrique Pessoa de Menezes e. **Microbiologia da cerveja: do básico ao avançado, o guia definitivo**. São Paulo: Livraria da Física, 2019.

SPÓSITO, M. B. *et al.* **A cultura do lúpulo**. Piracicaba: ESALQ - Divisão de Biblioteca, 2019. 81 p. (Série Produtor Rural, n. 68). Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/biblioteca/sites/default/files/publicacoes-a-venda/pdf/SPR68.pdf>. Acesso em: 6 abr. 2025.

STANDAGE, T. **A history of the world in 6 glasses**. New York: Walker Publishing Company, 2005.

STEWART, G. G.; PRIEST, F. G. **Handbook of brewing**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006.

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

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

WALKER, G. M. **Yeast physiology and biotechnology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2000.

WALKER, G. Metals in yeast fermentation processes. **Advances in Applied Microbiology**, [S. l.], v. 54, p. 197-229, 2004.

WHITE, Chris; ZAINASHEFF, Jamil. **Levedura: guia prático para a fermentação de cerveja**. Tradução de Bianca Telini e Marcelo Menoncin. Edição de Pedro Paranhos. São Paulo: Editora Krater, 2020.

WUTTKE, Caroline. **Estudo de caso: avaliação da formação de SO₂ na etapa de fermentação em uma cervejaria do RS.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia, Porto Alegre, 2018. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/174427>. Acesso em: 30 abr. 2025