



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

**JOÃO ARTHUR GALMARINI DOS SANTOS**

**PRODUÇÃO E ANÁLISE DE CERVEJA**  
**ESTILO TRADICIONAL FARMHOUSE ALE COM FERMENTO KVEIK**  
**NORUEGUÊS**

**JOÃO PESSOA**

**2022**

**JOÃO ARTHUR GALMARINI DOS SANTOS**

**PRODUÇÃO E ANÁLISE DE CERVEJA  
ESTILO TRADICIONAL FARMHOUSE ALE COM FERMENTO KVEIK  
NORUEGUÊS**

Trabalho de Conclusão de Curso que apresenta à Coordenação do Curso de Química Industrial do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Químico Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa

Co-orientador: Dr. Sófacles Figueredo Carreiro Soares

**JOÃO PESSOA**

**2022**

S237p Santos, Joao Arthur Galmarini Dos.

PRODUÇÃO E ANÁLISE DE CERVEJA ESTILO TRADICIONAL  
FARMHOUSE ALE COM FERMENTO KVEIK NORUEGUÊS / Joao  
Arthur Galmarini Dos Santos. - João Pessoa, 2022.  
69 f.

Orientação: Carlos Alberto Bispo Sousa.

Coorientação: Sófacles Figueredo Carreiro Soares.  
TCC (Graduação) - UFPB/CT.

1. Kveik. 2. Fermentação. 3. Saccharomyces  
cerevisia. 4. Cerveja Artesanal. 5. Análise Cinética.  
I. Sousa, Carlos Alberto Bispo. II. Soares, Sófacles  
Figueredo Carreiro. III. Título.

UFPB/CT/BSCT

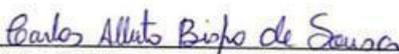
CDU 66.01(043.2)

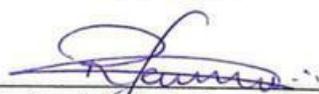
JOÃO ARTHUR GALMARINI DOS SANTOS

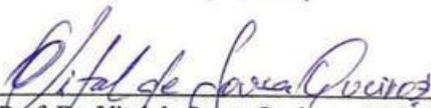
PRODUÇÃO E ANÁLISE DE CERVEJA  
ESTILO TRADICIONAL FARMHOUSE ALE COM FERMENTO KVEIK  
NORUEGUÊS

Trabalho de Conclusão de Curso que apresenta à Coordenação do Curso de Química Industrial do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Químico Industrial..

APROVADO EM: 28/06/2022

  
Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa – DEQ/CT/UFPB  
(Orientador)

  
Prof. Dr. Rênio Félix de Sena – DEQ/CT/UFPB  
(Avaliador)

  
Prof. Dr. Vital de Souza Queiroz – DEQ/CT/UFPB  
(Avaliador)

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a todos os grandes mestres e pensadores que fizeram sua passagem em nossa terra. Gênios da ciência e filosofia, deixam sua herança eterna sobre os nossos ombros, para que pela elevação da consciência humana, e o desenvolvimento do pensamento crítico, possamos dar continuidade ao seu legado de descobertas e grandes feitos para a humanidade.

## AGRADECIMENTOS

Inicio meus agradecimentos, citando as pessoas mais importantes em minha vida, que fizeram sempre parte de meu alicerce como cidadão do mundo. Minha família que, sempre presente e dedicada, proporcionaram a mim e ao meu querido irmão e melhor amigo, Vitor Galmarini, uma vida com qualidade e esperança, através dos estudos, dos esportes, da arte, das experiências sensoriais e acima de tudo, com respeito e dignidade. A querida cunhada Saskia Lemos, pela amizade, por dividir seu conhecimento e experiências, principalmente cuidando de meu irmão.

Meus pais Adriana Galmarini e Fernando Santos, que sempre batalharam para que uma base sólida e concreta estivesse sobre meus pés, para que em todas as batalhas da minha vida, fossem travadas com força e perseverança, sempre acreditando no poder das entidades divinas de me proteger e guardar meu caminho.

Aproveito aqui para agradecer a todas as pessoas que estiveram em minha vida de alguma maneira, positivamente incentivando e apoiando, meu Avô Dionizio que sempre foi presente e trouxe carinho e esperança. Meus padrinhos que lá de longe, sempre me deram apoio, ajuda e palavras de sabedoria. Sr Toninho e Dona Sandra que são meus tios de coração e se fizeram tão importantes quanto família em momentos de aflição e dificuldades. Neste espaço dedico meu carinho e cumplicidade a minha namorada Ismenia que se fez tão presente e importante nestes últimos períodos, me apoiando e ajudando em todas as situações, tornando meu caminho mais leve e mais doce.

Dedico a todos vocês, todo meu esforço e dedicação, e principalmente meu amor.

Neste momento, não posso esquecer de todos os professores que cruzaram o meu caminho e que me ajudaram a escolher o meu futuro, que me incentivaram e me moldaram a entender o mundo com uma visão mais clara e objetiva. Agradeço aos que me trouxeram ao caminho da ciência, aos caminhos do conhecimento e me ajudaram chegar a uma universidade renomada e que me entregou tantas conquistas como estudante.

Não podendo esquecer dos meus amigos e familiares tão queridos, que já partiram deste mundo, para planos mais elevados, que possam sempre estar reconfortados pela energia do nosso senhor, e que continuem olhando por nós, batalhando ainda aqui no plano terrestre. Descansem na sabedoria de nosso pai celestial.

Gostaria de agradecer aos meus orientadores para realização deste trabalho, Professor Dr. Carlos Alberto Bispo, como um grande profissional e cientista que me norteou e me apoiou em minha carreira como cervejeiro a muito tempo. Ao meu coorientador e espetacular cientista Dr. Sófacles Figueiredo por passar tanto conhecimento técnico científico ao apoiar minhas análises, como um amigo e cervejeiro dedicado à ciência. Ressalvas ao amigo Rayrone Leal que sempre esteve prestativo, ajudando em todas as etapas para o desenvolvimento das práticas no LPFD.

Aos meus coordenadores de curso e estágio , Dr Raul Rosenhaim e Dr. Rênio Félix, por terem sido grandes mestres em inúmeros momentos de minha jornada acadêmica, e terem desempenhado papel fundamental como coordenadores de graduação durante a pandemia Covid 19 com dedicação, tornando possível que todos os nossos problemas fossem solucionados com eficiência, permitindo a chegada deste momento tão importante na vida dos estudantes, o tão sonhado e suado título acadêmico.

Gostaria de finalizar este momento, agradecendo meus amigos Fernando Turrúbia e Emmanuel Uchoa da Cervejaria Philipeia por abrirem as portas para realização do meu estágio profissional, local muito estruturado e preparado para aprender e exercer muitos conhecimentos específicos desta área que tanto me encantou dentro da Engenharia industrial.

## RESUMO

Reconhecida como uma das bebidas mais antigas da humanidade, a cerveja vem escrevendo sua história junto ao homem à séculos, sua descoberta data-se de 4000 a.c na região da antiga Suméria, Mesopotâmia. Sendo acidentalmente produzida através da fermentação de pedaços de pães de centeio umedecidos, que posteriormente apresentaram sabores e aromas agradáveis, fruto da fermentação alcoólica por microorganismos hoje conhecidos como *Saccharomyces cerevisiae* . Com o avanço da tecnologia e a descoberta da Microbiologia envolvendo processos fermentativos, a cerveja evoluiu e junto dela um crescente mercado consumidor. A bebida como conhecemos hoje é composta por água, malte de cereais, lúpulo e Leveduras que serão o foco do presente trabalho. O crescente mercado das cervejas artesanais abriu espaço para inovações e descobertas, que vem impactando positivamente um cenário outrora dominado pelas cervejas Lagers de massa que se popularizaram com o surgimento da tecnologia de refrigeração, pois necessitam de baixas temperaturas de trabalho e longo tempo de descanso para obtenção de uma cerveja límpida e cristalina. Este cenário atual também trouxe de volta receitas, técnicas e ingredientes esquecidos pela indústria, bem como leveduras não tão ortodoxas como as Kveiks, que são cepas híbridas de origem norueguesa e adjacências, conhecidas por possuírem grande termotolerância, resistência superior ao álcool e velocidades de trabalho, e principalmente gerarem excelentes características sensoriais ao produto final. Também chamadas de super leveduras, as kveiks vem ganhando espaço entre os cervejeiros e cervejarias pelo mundo. Neste trabalho iremos abordar a eficiência de trabalho da cepa Kveik de Voss, Noruega, frente à uma levedura tradicional em diversas condições de trabalho, traçando um estudo cinético comparativo, sucedido por estudo Físico Químico do produto final, executar uma análise sensorial para validar a argumentação da qualidade dessas cepas, em amplas aplicações para gerar novos produtos , bem economia de tempo gerando possível redução de custo à produção agregados à um produto agradável ao paladar.

**Palavras-chave:** *Kveik, fermentação, saccharomyces cerevisiae, cerveja artesanal, análise cinética*

## **“BEER PRODUCTION AND ANALYSIS**

### **TRADITIONAL STYLE FARMHOUSE ALE WITH NORWEGIAN KVEIK YEAST”**

#### **ABSTRACT**

Recognized as one of humanity's oldest drinks, beer has been writing its history with man for centuries, its discovery dates back to 4000 BC in the region of ancient Sumeria, Mesopotamia. Being accidentally produced through the fermentation of pieces of moistened rye bread, which later had pleasant flavors and aromas, the result of alcoholic fermentation by microorganisms now known as *Saccharomyces cerevisiae*. With the advancement of technology and the discovery of Microbiology involving fermentation processes, beer evolved and with it a growing consumer market. The growing craft beer market has opened up space for innovations and discoveries, which has positively impacted a scenario once dominated by mass lagers that became popular with the emergence of refrigeration technology, as they require low working temperatures and long resting times to obtaining a clear and crystalline beer. This current scenario has also brought back recipes, techniques and ingredients forgotten by the industry, as well as unorthodox yeasts such as Kveiks, which are hybrid strains of Norwegian origin and surroundings, known for having great thermotolerance, superior resistance to alcohol and working speeds. , and mainly generate excellent sensory characteristics to the final product. Also called super yeasts, kveiks have been gaining ground among brewers and brewers around the world. In this work, we will address the work efficiency of the Kveik strain from Voss, Norway, against a traditional yeast in different working conditions, tracing a comparative kinetic study, followed by a physical chemical study of the final product, performing a sensory analysis to validate the argument of the quality of these strains, in wide applications to generate new products, as well as time savings generating possible cost reduction to the production added to a product pleasant to the taste.

**Keywords:** Kveik, fermentation, *saccharomyces cerevisiae*, craft beer, kinetics analyses

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> - Anel de Kveik.	19
<b>Figura 2</b> - Diferentes cepas de Kveik e sua origem.	20
<b>Figura 3</b> - Diferentes aromas descritos nas cepas.	21
<b>Figura 4</b> - Tipos de malte.	23
<b>Figura 5</b> - Flor de Lúpulo.	24
<b>Figura 6</b> - Representação do Ciclo de Krebs .	25
<b>Figura 7</b> - Contagem de células viáveis no Kveik.	34
<b>Figura 8</b> - Fluxograma de produção da cerveja.	36
<b>Figura 9</b> - Moagem dos grãos.	37
<b>Figura 10</b> - Etapa de mosturação.	38
<b>Figura 11</b> - Lúpulo Cascade em Pellet.	39
<b>Figura 12</b> - Candi syrup vermelho caseiro	39
<b>Figura 13</b> - Processo de resfriamento por chiller de contra fluxo	40
<b>Figura 14</b> - Biorreatores.	40
<b>Figura 15-</b> Cerveja final SafAle S-33	58

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Composição química do lúpulo em flor.	24
<b>Tabela 2</b> - Formulação da cerveja.	35
<b>Tabela 3.</b> Contagem das câmaras da Região C	43
<b>Tabela 4.</b> Contagem das câmaras da Região C para o Kveik	45
<b>Tabela 5.</b> Evolução da Fermentação em termos de consumo de SST	47
<b>Tabela 6.</b> Correção de Densidade e Teor Alcólico para °Brix	48
<b>Tabela 7</b> - Variação de Ph das cepas durante a fermentação	50
<b>Tabela 8.</b> Medidas de absorbância por tempo	52
<b>Tabela 9-</b> Análise físico química cerveja final S-33	55
<b>Tabela 10-</b> Análise físico química cerveja final Kveik Voss	56

**LISTA DE GRÁFICOS**

<b>Gráfico 1-</b> Curva comparativa cinética : grau °BRIX vs. Tempo(h)	47
<b>Gráfico 2-</b> Relação de Densidade vs. teor alcóolico S-33	49
<b>Gráfico 3-</b> Relação de Densidade vs. teor alcóolico Kveik Voss	50
<b>Gráfico 4-</b> Curva comparativa da Variação de Ph	51
<b>Gráfico 5-</b> Absorbância da cerveja levedura S-33	53
<b>Gráfico 6-</b> Absorbância da cerveja levedura Kveik Voss	54

## SUMÁRIO

<b>1.Introdução</b>	<b>16</b>
<b>2.Objetivos</b>	<b>18</b>
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
<b>3.Revisão Bibliográfica</b>	<b>18</b>
3.1 As Leveduras Kveik e sua História	18
3.2 Matérias-Primas	21
3.2.1 Água	21
3.2.2 Malte	22
3.2.3 Lúpulo	23
3.2.4 Levedura	25
3.3.1 Moagem	26
3.3.2 Mosturação	27
3.3.3 Clarificação do Mosto	28
3.3.4 Fervura	28
3.3.5 Resfriamento	29
3.3.6 Fermentação	29
3.3.7 Maturação Físico-Química	30
3.3.8 Envase	30
3.4 Levedura Kveik “Hothead” Stranda	31
3.5 Levedura controle SafAle™ S-33 Belgian Ale	32
<b>4. Materiais e Métodos</b>	<b>32</b>
4.1 Material	32
4.2 Métodos	32
4.2.1 Reidratação e Starter de Cultura	32
4.2.2 Determinação de Proporções	33
4.2.3 Formulação das Cervejas	34
4.2.4 Processo de Produção	35
4.2.4.1 Moagem do Malte	36

	14
4.2.4.2 Mosturação	37
4.2.4.3 Clarificação do Mosto	38
4.2.4.4 Lavagem	38
4.2.4.5 Fervura	39
4.2.4.6 Resfriamento	39
4.2.4.7 Fermentação	40
4.2.4.8 Maturação	41
4.2.4.9 Envase (Priming)	41
4.3 Acompanhamento Cinético da Fermentação	41
4.4 Análise Físico-Química do Produto Final	42
<b>5. Resultados e Discussão</b>	<b>43</b>
5.1 Contagem de Células, Viabilidade e Vitalidade	43
5.1.1 Contagem de Células e Viabilidade SafAle S-33	43
5.1.2 Contagem de Células e Viabilidade Kveik Voss	44
5.1.3 Padronização do Inóculo	45
5.2 Cinética de Fermentação	46
5.2.1 Cinética de evolução: grau °BRIX, Densidade e Teor Alcoólico	46
5.2.2 Evolução do poder de acidificação das cepas	50
5.2.3 Turbidimetria e a Variação da concentração de células	52
5.3 Análise Físico Química do produto final	55
5.3.1 Análise Físico Química do produto final S-33	55
5.3.2 Análise Físico Química do produto final Kveik Voss	56
5.4 Discussão Sensorial e impacto do produto final	58
<b>6. Considerações Finais</b>	<b>60</b>
<b>7. Referências</b>	<b>62</b>
<b>8. Apêndices</b>	<b>65</b>

**EPIGRAFE**

**“A imaginação é mais importante que o conhecimento. Conhecimento auxilia por fora, mas só a imaginação nos leva ao verdadeiro entendimento. O conhecimento vem, mas a sabedoria tarda ao tapar os olhos da realidade.”**

**Albert Einstein**

## 1. Introdução

Segundo Venturini Filho (2010), a cerveja é uma bebida fermentada com uma história de cerca de 8000 anos e tem a sua origem incerta. Especula-se que a prática cervejeira possa ter sido iniciada na Mesopotâmia, em que crescia uma espécie selvagem de cevada. Essa bebida foi desenvolvida paralelamente aos processos de fermentação de cereais e difundiu-se lado a lado com as culturas de milho e aveia (AQUARONE, 2008). No Egito, a cerveja era uma bebida nacional e tal prática era de responsabilidade dos padeiros, justificado pela natureza das matérias-primas.

No entanto, com o desenvolvimento dos povos, os processos de produção foram se modificando e vários ingredientes eram adicionados para contribuir no sabor e no amargor. O aparecimento de novos ingredientes e microorganismos foi responsável pela diferenciação dos estilos e tradições de sabores pelo mundo, tais como métodos e estilo de produzir a bebida de modo geral. Uma grande influência no mercado moderno são os estilos Farmhouse, tradicionalmente feitos por camponeses das regiões da França e Bélgica, conhecidas como Saison Ales, e na Finlândia e Noruega, conhecidas como Farmhouse ales.

Kveik significa levedura em norueguês e trata-se de um conjunto de leveduras, em sua maioria da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, de origem norueguesa ou países adjacentes, onde existem a cultura milenar das cervejas do estilo Farmhouse. Segundo Garshol (2020), nestas regiões geralmente isoladas, as cervejas são produzidas por pequenos fazendeiros e agricultores, com insumos e técnicas locais, incluindo as leveduras, que eram armazenadas, trocadas e mantidas entre as gerações de fazendeiros. Durante a fermentação, os fazendeiros mergulhavam anéis de madeira ou linho, em seguida, secavam e congelavam as Kveiks ao ar livre. Para reativar as leveduras, os anéis eram mergulhados em mosto quente (de até 40°C), lembrando que a maioria das leveduras não sobrevive ao processo de secagem e congelamento e nem ao inóculo em altas temperaturas, sendo este um dos diferenciais destas cepas.

A alguns anos atrás, as Kveiks, eram pouco conhecidas fora do seu local de origem, porém sua popularidade vem crescendo, acompanhada de pesquisas e

publicações acerca do assunto, bem como sua utilização na produção de cervejas no Brasil e em outros países, devido ao destaque de suas características em comparação às leveduras tradicionais das quais são geneticamente distintas.

Vale a pena ressaltar que a grande maioria das Kveiks, afirma Garshol (2021), são negativas para o gene *poF*, que resulta em aromas fenólicos que lembram cravo, canela e pimentas, que são indesejados para a maioria dos estilos conhecidos. Um destaque é que na diminuição do controle de temperatura, não resulta em aromas e sabores indesejados, como álcoois fúseis, diacetil ou acetaldeído, tornando possível produzir cervejas com perfil de ésteres bastante equilibrado, aromas frutados agradáveis e excelente sinergia com lúpulos mais contemporâneos e inovadores.

Diante disto, faz-se necessário compreender através deste estudo, investigar e catalogar as vantagens físico-químicas e microbiológicas da fermentação com a levedura Kveik, perante sua história ao longo do tempo, uma vez que encontram-se poucos estudos publicados acerca do assunto. Este estudo tem como objetivo comparar a qualidade e velocidade de fermentação da Kveik “Voss Sigmund Gjernes” da região de Voss, Noruega em relação à cepa cervejeira tradicional Ale S-33(Fermentis), proveniente da Bélgica, atestando suas características físico químicas e sensoriais superiores. O trabalho divide-se em capítulos onde estão expostas uma série de revisões bibliográficas a respeito das matérias primas, processos de produção da cerveja, metodologias de análise e apresentação de resultados. Subsequentemente, iremos detalhar os materiais e métodos utilizados para realização deste estudo.

## **2.Objetivos**

### **2.1 Objetivo Geral**

Comparar a qualidade e velocidade de fermentação da Kveik Voss “Sigmund Gjernes” região de Voss, Noruega em relação à cepa cervejeira tradicional tipo Ale S-33 Fermentis, atestando suas características físico-químicas e sensoriais superiores.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Investigar características e comparar cepa Belga S-33 ao Kveik Voss - (Yeast Labs) ;
- Desenvolver a receita base de maltes, cereais e Lúpulos ;
- Contar, multiplicar e padronizar o inóculo das cepas;
- Acompanhar a cinética de fermentação de ambas leveduras e suas diferentes características ;
- Análise Físico-química do produto final ;

## **3.Revisão Bibliográfica**

### **3.1 As Leveduras Kveik e sua História**

Kveik, de acordo com Preiss (2018) é uma palavra do dialeto norueguês para descrever “Levedura”, referindo-se especificamente ao conjunto de leveduras não purificados que contém várias cepas domesticadas (não selvagens) de *Saccharomyces cerevisiae*, na qual vem sendo reutilizada por gerações na tradicional e nada ortodoxa escola cervejeira norueguesa. Originalmente, a palavra era usada como um verbo para significar "começar" ou "recomeçar" a vida, e eram utilizadas por cervejeiros tradicionalmente em fazendas, conhecidos como Farmhouse brewers, dando origem à um estilo próprio de produção.

São consideradas super leveduras por suas incríveis capacidades de tolerância alcoólica e temperaturas elevadas, as kveiks, segundo Garshol (2021), foram ressuscitadas pelos cervejeiros modernos por terem uma capacidade muito

peculiar dos fungos, a habilidade de esporar para a proteger a geração, portanto, são resistentes à secagem em diferentes faixas de temperaturas. Tradicionalmente, eram mergulhados anéis de madeira dentro do mosto quente, a cerca de 40°C, que continham as leveduras em estado seco e congeladas pelas baixas temperaturas do ambiente. As mesmas, eram capazes de se reidratar e iniciar o trabalho de multiplicação celular e fermentação alcoólica, muito rapidamente e por estes fatos, ficaram conhecidas como “super leveduras”.

**Figura 1 – Anel de Kveik**



Fonte: Historical Brewing Techniques: The Lost Art of Farmhouse Brewing ,Garshol Lars

Atualmente, de acordo com Kawa-Rygielska (2021) são conhecidas aproximadamente 55 tipos diferentes de cepas, as quais diferem-se pelo seu local de origem e a sua capacidade de geração de aromas e sabores, dadas as próprias condições locais impostas. Abaixo, estão listadas algumas das cepas com sua origem e características de tolerância alcoólica, taxa de inóculo, quantidade de microorganismos presentes no aglomerado e forma de coleta indicada para melhor reaproveitamento.

**Figura 2** – Diferentes cepas de Kveik ,origens e características genéticas.

No	Name	Owner	Place	NCYC	Pitch	Harvest	Bacteria	POF	Strains	Max ABV
1	Sigmund	Sigmund Gjernes	Vestbygdi	<a href="#">3995</a>	39	bottom	N	N	3	13
2	Rivenes	Svein Rivenes	Dyrvedalen	<a href="#">3545</a>	37	top			7	
3	Stranda	Stein Langlo	Stranda	<a href="#">4021</a>	30	top		N	1	16
4	Muri	Bjarne Muri	Olden	<a href="#">4045</a>	32			Y	2	14
5	Hornindal	Terje Raffevoid	Grodås	<a href="#">4051</a>	30	top	Y	N	8	16
6	Lærdal	Dagfinn Wendelbo	Lærdal	<a href="#">4283</a>	30	either	Y	N	6	14
7	Granvin	Tor Ølver Helland	Dyrvedalen		30	bottom	N	N		16
8	Tormodgarden	Sigurd Johan Saure	Sykkylven	<a href="#">4171</a>	30	bottom	N	N	10	15
9	Ebbegarden	Jens Aage Øvrebust	Stordal	<a href="#">4224</a>	28	top	Y	N		16
10	Framgarden	Petter B Øvrebust	Stordal	<a href="#">4170</a>	30		N	N		16
11	Lida	Samuel Lien	Grodås		33	top				
12	Nupen	Jarle Nupen	Eidsdal	<a href="#">4196</a>	31	top	N		8	
13	Årset	Jakob Torp Årset	Eidsdal		28	top				
14	Eitrheim	Reidar Eitrheim	Bleie	<a href="#">4284</a>	37	either				
15	Nornes	John Nornes	Dyrvedalen	<a href="#">4101</a>	36				5	
16	Simonaitis	Julius Simonaitis	Joniškėlis	<a href="#">4207</a>	35	top	Y	Y	5	15
17	Midtbust	Midtbust	Stordal		33	top			6	
18	Gause									
19	Nyste								2	

Fonte: Kveik Yeast Explained: Behind the Magic ,Homebrew Academy

As diferentes cepas, apresentam inúmeras características de aroma, atenuação e floculação ao produto final. Algumas das variantes apresentam em seu perfil fermentativo aromas de especiarias, essas diferenciam-se por conter seu gene POF1 ativo. Segundo Meaden *et al.* (1991), o gene (POF1) , que confere à levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) a capacidade de descarboxilar ácidos fenólicos, como ácido ferúlico e trans-cinâmico. Esta propriedade foi previamente indicada como uma causa da produção de sabor fenólico na fermentação do mosto.

Algumas características são descritas em sua grande maioria como sabores frutados, cítricos ou levemente neutros, conforme a figura abaixo (**Figura 3**):

**Figura 3 – Diferentes aromas descritos nas cepas**

Levedura	Características
Sykkylven 1	Limpa, Frutada, Maltada, RUM
Sykkylven2	Frutado Sutil, malte acentuado, Lembra ligeiramente uma levedura lager
Laerdal2	Levemente frutado, leve borracha, floral, sabor doce
Stranda1	Cítrico, maçã vermelha, muito limpo e seco, equilibrado
Stordal(framgarden)1	Éster cítrico elevado, ligeiramente quente, maçã vermelha, floral, maltado
Stordal(framgarden)2	Maçã vermelha, leve crocante / sulfúrio (agradável) caráter lagery, floral, frutas tropicais leves, acidez leve
Stordal(ebbegarden)1	Rum
Stordal(ebbegarden)2	Cítrica, maçã vermelha, floral, limpa e equilibrada
Muri1*	Terra, ervas, enxofre, maçã, pêra, cravo muito leve, não super seco apesar da atenuação ridícula (~ 95%)
Voss(Gjernes)1	Laranja, floral, sabor equilibrado, bom corpo
Voss(Gjernes)2	Cidra, floral, leve terroso, leve laranja, limpa, seca
Hornidal1	Tropical, abacaxi, rum
Hornidal2	Floral, rosa
Hornidal3	Laranja, maçã vermelha, rum
Granvin1	Laranja de menor intensidade, maçã vermelha, abacaxi leve, “Kveiky”, balanceado
Granvin2	Ésteres balanceados, citro não tão intenso, ligeiro enxofre (agradável), seco e fino

Fonte: Dicas e Resultados do uso da levedura Kveik, Beer School, 2020.

Características distintas de aroma, bem como diferentes características organolépticas do produto final, diferem as inúmeras cepas já encontradas e isoladas por grandes marcas, criando um novo e extenso leque de aplicações e estilos a serem explorados. Devido a essa distinta gama de aromas, atenuação aparente e floculação específica, as várias cepas podem ser escolhidas para seu melhor aproveitamento referente ao uso e aplicação desejada.

## 3.2 Matérias-Primas

### 3.2.1 Água

A água constitui a maior parte integrante da cerveja é portanto, de suma importância para a qualidade da bebida. Receitas tradicionais de cerveja são constituídas por aproximadamente 95% de água. Por esse motivo, a sua qualidade é primordial na elaboração de qualquer tipo de cerveja; estar de acordo com os padrões de potabilidade para consumo, bem como seus ajustes específicos para o processo cervejeiro são imprescindíveis. Partindo desse pressuposto, a ausência de íon Cloro e contaminantes químicos e/ou microbiológicos são essenciais para

produzir uma bebida de alta qualidade. Segundo Palmer (2013) , os íons que compõem a água de cada estilo são responsáveis por ressaltar e controlar características de sabor e palatabilidade. Alguns íons como Cloretos e Sulfatos são responsáveis por equilibrar o balanço de dulçor e amargor, respectivamente. Os íons Cálcio e Magnésio, compreendem o conceito de dureza da água e participam ativamente desde a mosturação melhorando a extração de açúcares, até a fermentação/maturação aumentando a clarificação do fermento.

De acordo com Palmer (2013), o sódio e o cloreto arredondam e acentuam a doçura da cerveja, enquanto que os sulfatos e o magnésio acentuam o amargor do lúpulo. É necessário conhecer e entender o perfil dos minerais da água utilizada na fabricação e discernir o perfil desejado em cada receita a fim de aferir a água de mosturação corretamente. Ainda existem os íons Carbonatos que são responsáveis por controlar a alcalinidade residual da água e podem ser imprescindíveis em produções de cervejas escuras que apresentam alta intensidade de taninos e acidez pelo processo de malteação e torra dos maltes.

O pH tem grande influência na ação das enzimas no processo de mosturação e fermentação uma vez que, toda enzima têm um pH ótimo de atuação e à medida que esse cenário se afasta do ideal, seja pelo seu aumento ou diminuição, a atividade enzimática é prejudicada. Segundo Borzani *et al.* (2008) a influência do pH sobre a catálise enzimática é exercida sobre grupos dissociáveis de vários aminoácidos e alguns desses grupos podem fazer parte do sítio ativo ou serem importantes na manutenção da estrutura espacial da molécula.

### **3.2.2 Malte**

Maltear um cereal é uma técnica que consiste em interromper sua germinação exatamente no momento em que o grão se encontra na fase de maior atividade enzimática e disponibilidade de conteúdo de açúcares redutores. Ao umedecer um grão ele inicia seu processo de germinação e seu conteúdo enzimático aumenta consideravelmente.

Após iniciada a germinação, de acordo com (Farzaneh et al. (2017), o grão é rapidamente seco a fim de interromper os processos bioquímicos naturais.

Exatamente no momento da secagem é possível controlar as características do malte, através da temperatura e tempo empregados no processo, dando origem a maltes com características torradas e até defumadas, os chamados maltes especiais.

Este tipo de componente é utilizado para conferir propriedades sensoriais à cerveja, como: cor, sabor e aroma. E são utilizados em proporções pequenas, já que apresentam um poder diastático menor devido ao seu processo de produção. A combinação proporcionada de todos os tipos de maltes, compõem grande parte das receitas modernas a fim de distinguir suas características físico-químicas e sensoriais.

**Figura 4 – Tipos de malte.**



Fonte: [alcofun.com](http://alcofun.com)

### **3.2.3 Lúpulo**

O lúpulo é conhecido por ser o ingrediente mais moderno inserido na cerveja. Lúpulo é uma flor da família das cônicas trepadeiras de regiões frias. Nativas das regiões temperadas da América do Norte, Europa e Ásia, são adaptadas ao clima frio destas regiões. Segundo Palmer (2006) passou a ser inserida por volta do século 16 nas receitas, e se popularizou no século 18 por sua larga utilização em receitas conhecidas como Indian Pale Ale (IPA). Composto por resinas amargas, óleos essenciais, polifenóis e outros compostos, listado na Tabela 1.

**Tabela 1** – Composição química do lúpulo em flor.

<b>Características</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Resinas amargas totais	12 – 22
Proteínas	13 – 18
Celulose	10 – 17
Polifenóis	4 – 14
Umidade	10 – 12
Sais minerais	7 – 10
Açúcares	2 – 4
Lipídios	2,5 – 3,0
Óleos essenciais	0,5 – 2,0
Aminoácidos	0,1 – 0,2

Segundo Daniels (1996), por sua composição de óleos e resinas, o lúpulo confere características de amargor mais acentuadas após a isomerização na fervura, dando origem aos Alfa e Beta ácidos. São compostos responsáveis na cerveja pelo balanço de dulçor do malte, bem como sua estabilidade microbiológica, pois apresentam inúmeras características antibacterianas.

O lúpulo se tornou o ingrediente mais precioso nas últimas décadas apresentando inúmeras inovações por cruzamento de raças tradicionais, originando um novo universo de aromas e sabores a serem explorados pelos produtores.

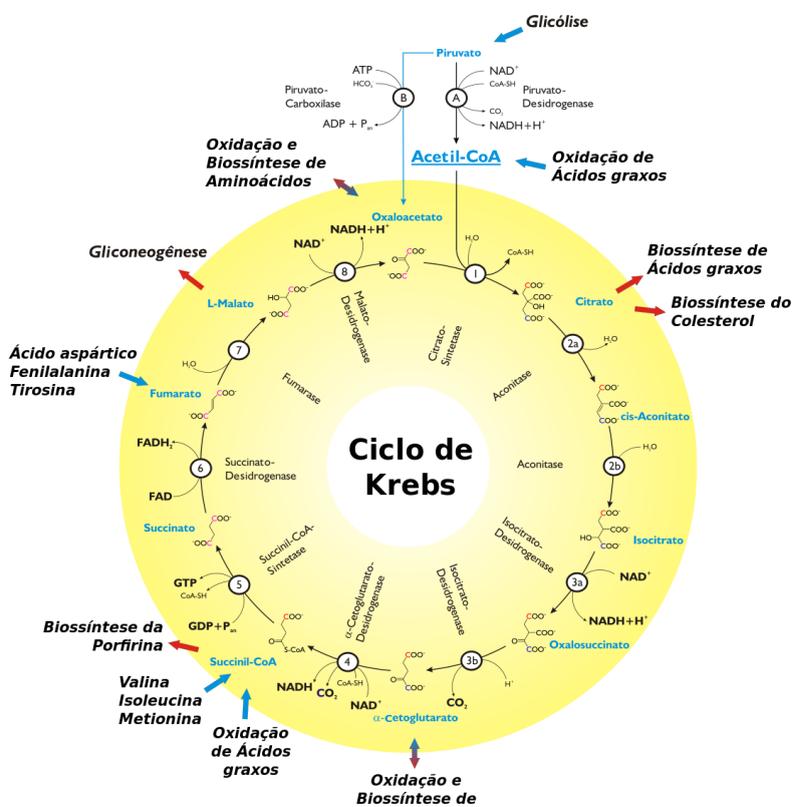
**Figura 5** – Flor de Lúpulo

Fonte: WE consultoria.

### 3.2.4 Levedura

A evolução da microbiologia e o entendimento do organismo levedura em 1860 por Louis Pasteur, pertencentes ao reino fungi, permitiu o desenvolvimento do processo fermentativo de maneira mais controlada. A levedura, afirma Palmer (2006), é um microrganismo unicelular que se reproduz assexualmente por divisão celular e tem a capacidade de sobreviver em ambientes com e sem a presença de oxigênio, e portanto, respira e se reproduz em condições aeróbias ou anaeróbias. Esta característica permite a adaptabilidade que através do conhecido ciclo de Krebs, o microrganismo esteja preparado para respirar e se multiplicar na presença de oxigênio, ou simplesmente sobreviver na ausência do oxigênio, quando entra em sua fase anaeróbia produzindo ATP dos açúcares, liberando alguns compostos ácidos, ésteres e principalmente CO<sub>2</sub> e álcool EtOH(etanol).

Figura 6 – Representação do Ciclo de Krebs



De acordo com Venturini (2010), as leveduras tradicionais usadas no processo cervejeiro, subdividem-se em duas espécies, a *Saccharomyces cerevisiae* que tendem a se acumular no topo do biorreator e por isso são chamadas de "Ale", possuem faixa de trabalho em temperaturas entre 16-24°C, e tornam-se inativas abaixo de 12°C. A segunda espécie mais largamente utilizadas pela indústria cervejeira moderna, as leveduras do tipo Lager, as *Saccharomyces uvarum*, são conhecidas por se depositarem no fundo do recipiente e fermentarem em temperatura baixa, por volta de 4-12°C. Estas, possuem o MEL que lhes concede a produção da melibiase, enzima capaz de quebrar a ligação Glicose-Galactose presente no trissacarídeo Rafinose, liberado durante a mosturação do amido, produzindo assim cervejas mais secas e atenuadas, com menor conteúdo de açúcar residual.

Na fermentação do mosto a levedura utiliza os açúcares, proteínas, micronutrientes e íons do mosto para a sua sobrevivência e reprodução, fases responsáveis pela geração de etanol, gás carbônico, ácidos orgânicos, água e todos os compostos responsáveis por aromas e sabores, como ésteres e fenóis característicos de cada cepa distinta.

### **3.3 Processo de Produção de Cerveja**

#### **3.3.1 Moagem**

De acordo com Venturini (2010), a moagem é uma operação unitária, de exposição do conteúdo amiláceo dentro do endosperma do grão, facilitando o acesso da água às enzimas e açúcares redutíveis. Este processo influenciará diretamente na velocidade e eficiência da mosturação, uma vez que a velocidade de reação está ligada diretamente a superfície de contato entre as moléculas e enzimas.

Para que seja possível obter um mosto cristalino e bem homogêneamente convertidos, manter as cascas mais intactas possível, é imprescindível. Portanto, a escolha do moinho e da granulometria, são essenciais para cumprir a tarefa com maior eficiência possível.

Mais usualmente utilizado nas produções modernas, o moinho de rolos recartilhados movido por motores, são os mais difundidos pela literatura.

### **3.3.2 Mosturação**

A mosturação consiste no processo de hidrolisação de todo conteúdo dos cereais, maltados ou não. Esse processo consiste na parada de todos os grãos em água quente, com temperatura e pH específicos, a fim de liberar todo o conteúdo enzimático presente nos grãos maltados. Segundo Venturini (2010), essas enzimas, serão responsáveis por transformar os macronutrientes agora dissolvidos em unidades menores, e portanto consumíveis pelas leveduras na fermentação primária. Açúcares complexos, proteínas de alto e médio peso molecular, bem como as enzimas, trabalham para produzir um substrato nutritivo e adequado para uma fermentação saudável.

Como a mosturação é um processo enzimático, o controle da temperatura é essencial para o alcance do objetivo proposto, isso significa que de acordo com a temperatura, faz-se o favorecimento de determinada enzima, em detrimento da outra. Venturini (2010), afirma que algumas das rampas conhecidas estão 40-45° usada para uma produção de precursores de ácido ferúlico do trigo. A parada de 50-55°C, é conhecida como parada proteica, em que as proteases são favorecidas. Porém, as rampas mais importantes para o processo é a sacrifiação onde as amilases são favorecidas e ocorre toda a quebra do amido em açúcares mais simples. De acordo com a proposta sensorial do produto, faz-se o ajuste de temperatura favorecendo a alfa ou beta-amilase, produzindo açúcares mais ou menos reduzidos.

Diante do exposto, explica Borzani (2008), que o pH tem suma importância nesse processo, uma vez que toda enzima apresenta um pH ótimo de trabalho, que necessita ser respeitado para que ocorra, e caso ocorra uma perda do tampão, causam entre outros motivos, alteração da conformação espacial do catalisador, influenciando negativamente a aproximação do sítio ativo.

### 3.3.3 Clarificação do Mosto

De acordo com Venturini (2010), a clarificação é uma operação unitária que consiste em recircular o mosto sobre a sua própria cama de grãos, a fim de facilitar a retenção natural de cascas e bagacilho, capturando qualquer particulado indesejado. Atualmente é executada por bombas de elevação em diferentes tipos de layouts dos equipamentos.

Após esta etapa, o leito de grãos é lavado com uma certa quantidade de água, na temperatura do Mash Out 75-79°, para extrair o máximo de açúcar possível, elevando a eficiência e rendimento do processo pré fervura.

### 3.3.4 Fervura

A fervura é uma etapa crucial ao processo moderno, pois além de promover a esterilização por tempo em alta temperatura (acima de 99°C), também promove o chamado *Hot break*, que consiste na coagulação e precipitação de proteínas insolúveis, aumentando a eficiência da clarificação do mosto pré fermentação. É importante ressaltar também que durante a fervura, vários compostos indesejáveis serão eliminados. Segundo Palmer (2006), no mosto existem compostos sulfurados que se modificam durante a fervura, produzindo moléculas precursoras do dimetil sulfeto (DMS), que confere à cerveja final sabor de vegetais cozidos como milho por exemplo.

De modo geral, a etapa de fervura tem duração de 60 à 120 minutos, onde recebe as primeiras adições de lúpulo, para conferir amargor a cerveja e maximizar a isomerização dos ácidos e resinas, que após isomerizados, tornam-se alfa-ácidos e beta-ácidos, conferindo o IBU, unidade quantificável de amargor da cerveja.

Vale ressaltar que o processo de fervura não é obrigatório e não foi sempre utilizado na história da bebida. Uma vez que o conhecimento sobre tais benefícios não era difundido e conhecido até então.

### 3.3.5 Resfriamento

Segundo Palmer (2006), bem como um processo de esterilização, o resfriamento deve ser rápido e eficiente, para que evite-se também a proliferação de qualquer microrganismo contaminante no mosto. Um resfriamento rápido permite uma inoculação rápida da cepa, o que pode garantir uma melhor estabilidade celular do processo fermentativo. Um aspecto importante do rápido resfriamento do mosto é provocar a precipitação de algumas proteínas através do choque térmico, o chamado Cold Break. Nesta etapa afirma Venturini (2010), também é utilizada a técnica de Whirpool, que consiste em agitar o mosto com movimentos circulares promovendo a decantação e acúmulo do *trub* (complexo de proteínas, resinas e taninos) no centro do recipiente, facilitando a clarificação do mosto pré fermentação.

### 3.3.6 Fermentação

A fermentação é o processo mais importante para a bebida, no qual a levedura transforma o mosto rico em açúcares, na cerveja, através da produção de etanol, gás carbônico e outros compostos precursores de aromas e sabores, que conferem as características únicas ao produto. Dito isto, afirma Venturini (2010), que por se tratar de um processo envolvendo o metabolismo de um ser vivo, deve-se controlar parâmetros como a temperatura, nível de aeração do mosto e pH, para que o objetivo final seja alcançado e não seja produzido os chamados “off flavors”, que são compostos responsáveis por propriedades sensoriais indesejadas, formados por desvios metabólicos.

Pode-se dividir a fermentação em duas fases ou em dois processos distintos: a fase aeróbia, que tem duração de poucas horas, ocorrendo a adaptação do fermento ao meio que foi inserido, necessitando da presença de oxigênio para que aconteça a multiplicação de células e o consequente aumento da população. Já a fase anaeróbia é realizada com ausência de oxigênio, em que o fermento é obrigado a mudar o seu metabolismo e começa a produzir etanol e gás carbônico, juntamente com compostos secundários.

De acordo com Venturini (2010), As cervejas são comumente divididas em dois grandes grupos, de acordo com o tipo de fermentação que elas realizam. As cervejas de alta fermentação (do tipo *Ale*), são aquelas em que o fermento trabalha se acumulando na parte de cima do fermentador, a uma temperatura entre 17-24°C. Já as cervejas de baixa fermentação (do tipo *Lager*), são caracterizadas pela fermentação em temperaturas mais baixas, entre 4-12°C e o levedo se acumula no fundo do fermentador.

### **3.3.7 Maturação Físico/Química**

Após o final da fermentação, inicia-se o processo de maturação, em que a cerveja será submetida à temperaturas entre 2°C e 5°C acima da sua fermentação, fazendo com que as leveduras eliminem composto indesejados que tenha sido formados na fermentação primária, como Butíricos e Acetaldeído são eliminados nessa fase.

Isto posto, afirma Nachel (2008), que depois da maturação química, a bebida é submetida a um resfriamento gradual atingindo temperaturas entre 0°C e 3°C, e tem como objetivo eliminar compostos protéicos, fragmento de lúpulos e Leveduras inativadas, através da decantação ao fundo do biorreator, para ser purgado posteriormente. Este objetivo da maturação é promover a clarificação da cerveja a partir da sedimentação ,cujo processo é comumente utilizado como coadjuvantes como floculantes e gelatina.

### **3.3.8 Envase**

O envase é a etapa de acabamento da cerveja, onde será recebida pelo consumidor final. Podendo ser feito em garrafa de vidro âmbar, latas de alumínio, barris de inox/pet e growlers. Nesta etapa, será feita a correção da carbonatação do produto que pode ser realizado pelo processo forçado, em que se dissolve CO<sub>2</sub> no líquido gelado, através da aplicação por pressão desejada.

Por outro lado, de acordo com Palmer (2006), existe um processo muito utilizado por cervejarias clássicas e o pequenos produtores, o priming ou refermentação, em que, na hora do envase é adicionado à cerveja uma quantidade de açúcar ou mosto, calculado para que as leveduras ainda presentes no produto possam realizar uma pequena fermentação e produzir um pouco mais de etanol e

CO<sub>2</sub>, gaseificando a bebida. Este processo também elimina a oxidação, pois a levedura utiliza na refermentação as moléculas de O<sub>2</sub>.

Vale ressaltar que a cerveja comumente pode passar pelo processo de pasteurização, sendo esse mais aplicado nas cervejas de massa e/ou produto que estarão sujeitos ao transporte e longos períodos de viagem, até outros países por exemplo. Cervejas artesanais e craft beers normalmente não serão pasteurizadas, a fim de manter a qualidade e frescor dos compostos aromáticos da bebida.

### **3.4 Levedura Kveik “Sigmund Gjernes” Voss**

Para realização deste estudo, foi escolhida uma cepa conhecida como Voss, doada por Sigmund Gjernes, fazendeiro local, isolada pela empresa brasileira Yeast Labs de Franca-SP, nome comercial YLB 1010-Voss Kveik, cuja descrição indica altas tolerâncias à temperatura, volume alcóolico e em baixas temperaturas pode gerar cervejas límpidas e neutras. Algumas de suas vantagens incluem a geração de diferentes tipos de aromas frutados, possibilitando também a aplicação em cervejas modernas como IPAS e APAs, além de suas tradicionais receitas como Saisons e Farmhouse Ales. Segundo Garshol (2021), são leveduras de fácil armazenamento e manutenção. Proporcionam uma gama de aplicações ao cervejeiro pois geram aromas e resultados distintos em determinadas temperaturas e taxa de inóculo, oxigenação e tempo de trabalho. A Voss deverá apresentar características frutadas nas condições escolhidas para o estudo.

Por possuir alta velocidade de consumo de açúcar, resultando em uma fermentação mais rápida e altamente atenuada, ou seja, gerando um produto final com pouco açúcar residual. Além disso, promete ser um cepa altamente floculante, uma característica que facilita o processo de clarificação da cerveja durante a maturação. Outra vantagem desta distinta cepa, é a necessidade de menores quantidades de levedura para o processo, ou seja, menos insumo a ser comprado e armazenado. Além do controle de temperatura exigido ser mínimo, diminuindo os custos de produção pela eficiência energética do processo de fermentação e o tempo de aluguel no tanque ser acelerado. Facilitando a rotação dos biorreatores dentro de um processo fabril. Porém para este estudo, as taxas de inóculo foram padronizadas a fim de gerar resultados consistentes, sem utilizar de tendencialismo para indução de resultados.

### **3.5 Levedura controle SafAle™ S-33 Belgian Ale(FERMENTIS)**

Dentro deste cenário, a cepa de controle escolhida foi o S-33, Belgian Ale style, da empresa francesa FERMENTIS. Sua escolha se deu pois assemelham-se em alguns aspectos como alta tolerância alcoólica, ausência de aromas fenólicos(*POF-*), produção de ésteres frutados e álcool fuseis totais, em níveis medianos, gerando um comparativo não tendencioso ao fermento noruegues fonte deste estudo. De acordo com o fabricante, o seu tempo de floculação média deverá ser semelhante ao fermento Voss, juntamente à sua faixa de temperatura de trabalho escolhida. Porém, todas as taxas e suas curvas cinéticas serão comparadas por processo de fermentação simultâneas e posteriormente todas as análises executadas e apresentadas.

## **4. Materiais e Métodos**

### **4.1 Material**

Insumos cervejeiros básicos como malte, cereais lúpulo e leveduras tradicionais foram adquiridos através do Brew Shop online Lamas - Campinas. A levedura nórdica Kveik Voss foi adquirida com a comunidade cervejeira da Cidade de João Pessoa, Acerva-PB.

### **4.2 Métodos**

#### **4.2.1 Reidratação e Starter de Cultura**

Uma vez que a cepa de controle foi adquirida em sua forma liofilizada, faz-se necessário aplicar um método válido de reidratação. Seguindo as especificações do laudo técnico para a cultura de controle SafAle™ S-33 da Fermentis, fora escolhido como protocolo padrão para a cepa, a reidratação irá acontecer com água esterilizada, na faixa dos 28°C com descanso de 1 hora. A lama formada será inoculada diretamente no mosto resfriado.

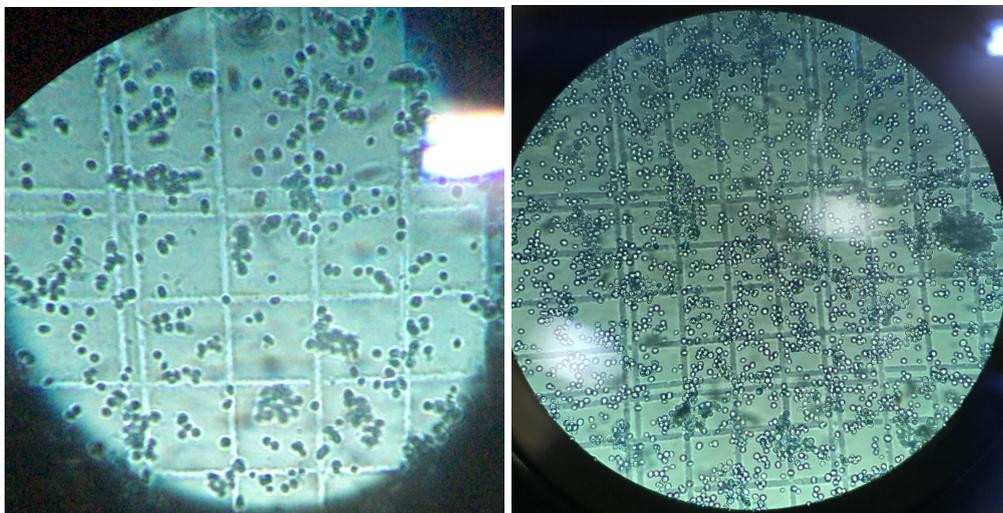
Para o Kveik Voss, que fora adquirido em sua forma líquida e já se encontrando vencido de sua validade, após a contagem em câmara de Neubauer foi

atestada a presença de células vivas, desta forma, possíveis de serem reativadas. Posteriormente, prosseguimos ao starter de cultura para aumento de viabilidade das células vivas, a fim de atingir um padrão na taxa de inóculo para ambas as cepas, uma vez que a origem incerta do Kveik não deve intervir na veracidade deste estudo. De posse de 400ml de mosto com gravidade original de 1.035 ou 8,5 BRIX , a levedura será inoculada, e mantida em agitação constante no agitador magnético com peixinho, por 48 horas, totalmente pronta para passar pelo teste de viabilidade do método qualitativo de Iodo, em que segundo Quain (1983), possibilita uma identificação rápida do glicogênio celular, por comparação da absorção de cor da lama do fermento, cujo a presença de alto glicogênio celular permite a tintura de iodo(2%) penetrar e reagir com o polissacarídeo, apresentando coloração roxa.

#### **4.2.2 Determinação de Proporções de inóculo**

Após a avaliação de viabilidade dos fermentos prontos para serem adicionados ao mosto resfriado, foram determinadas as taxas de inóculo por volume de cerveja produzida por Biorreator, a fim de padronizar ambos os microrganismos. O método de contagem de células por Microscopia utilizou a câmara de Neubauer (CLEMINTINO et al. 2020) onde o fermento foi diluído e colorado por Azul de metileno (0,2% m/m). A câmara de Neubauer permite uma contagem precisa sobre os quadrantes, nos quais foram identificadas as células de leveduras, diferenciando-se pela cor apresentada internamente à sua membrana plasmática. Revelados pelo método, os microrganismos vivos e viáveis, apresentam resistência à penetração da tintura, mantendo seu interior livre da cor azul, enquanto que os microrganismos mortos, não possuem manutenção da sua pressão osmótica, e portanto , a membrana é penetrada pela tintura.

**Figura 7** - Contagem de células viáveis no Kveik por método de Neubauer antes e depois da propagação, respectivamente à esquerda e à direita.



Fonte: Autor.

Após finalizado o starter de cultura, as leveduras foram decantadas e separadas de sedimentos protéicos do DME por decantação a frio. A separação manual permite bom aproveitamento do fermento saudável. A contagem total de microrganismos foi feita após a preparação da amostra, contendo 1 ml de leveduras, 1 ml de tintura azul e 18ml de água destilada, atingindo uma diluição de 1:20. A contagem pela câmara aplicada aos cálculos, apresentou 214 milhões/mL de células vivas e em boa saúde gliconeogênica.

Uma vez que os 12 litros de mosto à 13 Brix°, necessitam de uma demanda de 100 bilhões de células viáveis, foram adicionados cerca 400 ml de lama ao biorreator, em procedimento de underpitching, ou seja, inoculação com taxa de leveduras ligeiramente abaixo do estimado, a fim de promover maior formação de aromas durante a fermentação.

#### **4.2.3 Formulação das Cervejas**

A formulação da receita base foi pensada para atuar como um parâmetro neutro, evitando a formação de muitos precursores de ésteres provenientes do malte e portanto, abrindo espaço para que toda formação de aromas seja esperada pelo processo fermentativo. Aumentando assim a confiabilidade no método utilizado para este estudo. Uma batelada foi preparada no equipamento automatizado Bier Maker de 30 Litros, para melhor padronização da produção. O mosto resfriado fora dividido

em duas Bombonas atóxicas herméticas , que foram escolhidas como biorreator para este estudo, com aproximadamente 12 Litros cada, possuindo um grande “headspace” para servir de layer com atmosfera interna, aumentando a geração dos aromas na fase lag da fermentação, pois possibilitou maior absorção de oxigênio para as leveduras se multiplicarem e adaptarem-se melhor. As formulações estão expressas na tabela 2 abaixo:

**Tabela 2** - Formulação da cerveja.

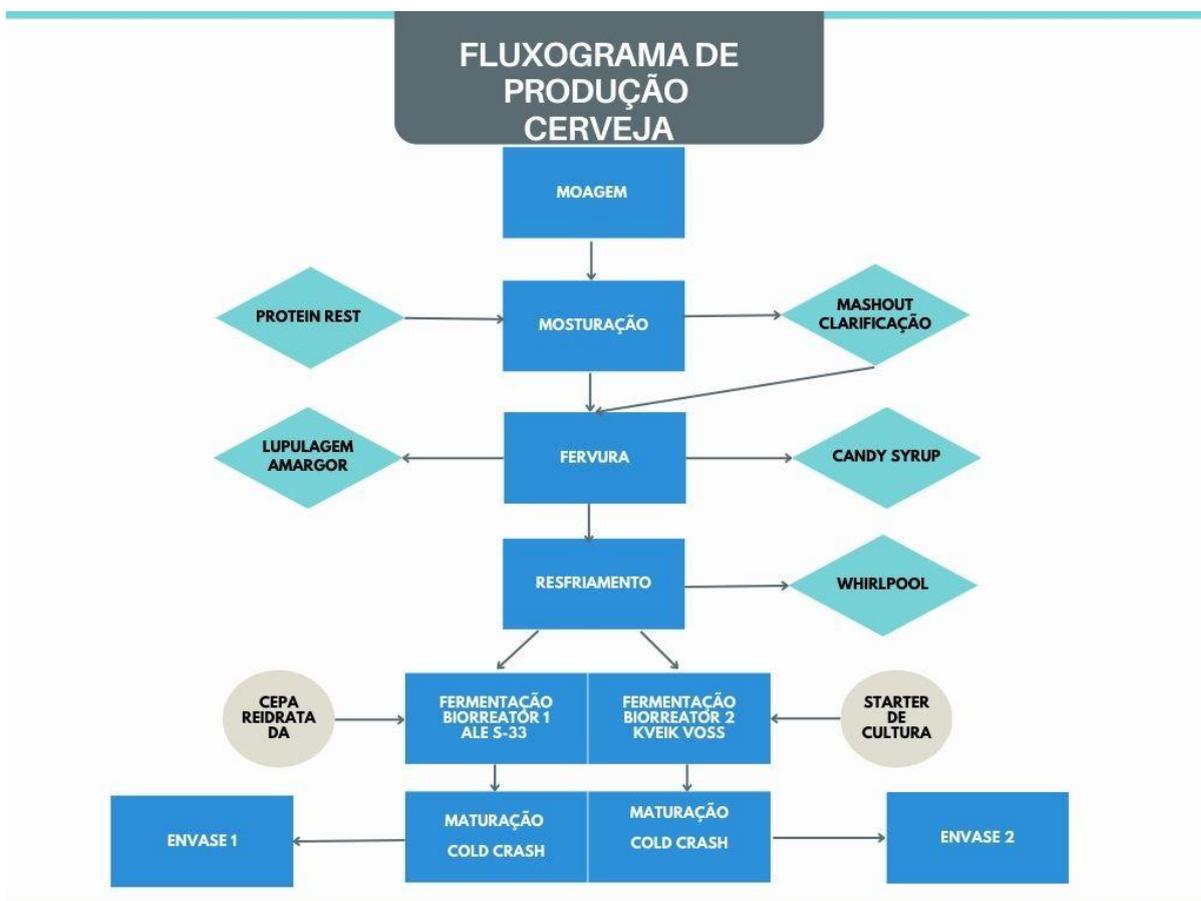
<b>INSUMOS</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Porcentagem m/m</b>
Malte Pilsen*	2500g	62%
Flocos de Arroz*	500g	12%
Trigo Branco*	400g	10%
Malte Melanoidina*	50g	1%
Malte Biscuit*	50g	1%
Floco de Aveia*	165g	4%
Candy Sugar Ambar	400g	10%
Lúpulo Amargor	30g	1,25 g/L
Lúpulo Sabor	42g	1,75 g/L

Fonte: Autor.

#### **4.2.4 Processo de Produção**

A produção das cervejas foi realizada no Laboratório de Produtos Fermento Destilados (LPFD), localizado em João Pessoa, Campus I – UFPB. A metodologia utilizada foi a de Venturini Filho (2010) com algumas adaptações no processo, de acordo com a figura abaixo (Figura 4):

**Figura 8 - Fluxograma de produção da cerveja.**



Fonte : Autor, via Canvas

#### 4.2.4.1 Moagem do Malte

Os maltes foram moídos com um moinho de rolos recartilhados da Cervejaria Philipeia , com a finalidade de apenas abrir as cascas e expor a parte central do cereal. O moinho é ajustado para manter as cascas inteiras, para melhorar a filtração durante a mostura e não trazer adstringência de taninos à bebida final.

**Figura 9 - Moagem dos grãos.**

Fonte: Autor.

#### **4.2.4.2 Mosturação**

Na mosturação, foi realizada a infusão dos maltes moídos em 20 Litros de água potável, tratada com 4,5g de  $\text{CaCl}_2$ , 2,5 de  $\text{Ca}(\text{SO}_4)$  e 0,5g de Vitamina C, a 56,0 °C, para que descansem por 10 minutos em 55°C para conversão protéica dos cereais não malteados como flocos de arroz, aveia e trigo branco. A segunda rampa foi elevada para 68°C por 90 minutos a fim de ativar as enzimas Alfa e Beta amilase, para conversão do amido, com recirculação constante por uma bomba, que homogeneiza e clarifica o mosto. Após 10 minutos, o pH 5,2 foi aferido e atestado como ideal para a mostura do grist escolhido. Ao fim dos 90 minutos, o mosto foi aquecido à 77°C para Mash-out, e submetido à lavagem também à 77°C, atingindo um volume de 27 Litros de mosto à 10,5 °Brix pré fervura. A eficiência estimada foi de 82% .

**Figura 10** - Etapa de mosturação.

**Rampas:** Proteolítica à esquerda e Sacarificação à direita.

Fonte: Autor.

#### 4.2.4.3 Clarificação do Mosto

A clarificação do mosto foi realizada através da recirculação do mosto, pela bomba controlada remotamente por cerca de 30 minutos, utilizando como leito filtrante os grãos decantados sobre o fundo falso do cesto de inox dentro da tina que impedem a passagem dos grãos para a tina principal.

#### 4.2.4.4 Lavagem

Na lavagem, foram utilizados 12 litros de água à 77,0 °C em sistema lavagem por contínua manual, descendo continuamente sem perturbar o leito de grãos, para não atrapalhar a clarificação do mosto.

#### 4.2.4.5 Fervura

A fervura foi dividida em duas etapas e teve duração total de 90 minutos. Os primeiros minutos foram fervidos à potência máxima do equipamento, para promover a evaporação de possíveis precursores de off flavors, provenientes do malte e dos cereais. Aos 60 minutos finais, foi adicionado 30g de lúpulo Cascade contendo 6,6 % de alfa ácidos à serem isomerizados na fervura, a fim de conferir o amargor de aproximadamente 19,5 IBU à cerveja. No último minuto de fervura, foi adicionado 42g de lúpulo Columbus, com 1,4 % de alfa ácidos, que por ser submetido à apenas alguns minutos entre a temperatura de fervura e o resfriamento até 70°C, conferem apenas 3 IBUs, somando aproximadamente 22,5 IBU à bebida final. Aos 15 minutos para o final da fervura foram adicionados 400g de candi syrup vermelho, trata-se de um açúcar invertido por hidrólise e aquecimento, acrescido de extrato de malte seco(DME), para trazer conteúdo nitrogenado e proporcionar as reações de maillard e caramelização durante 30 minutos de fervura à 171°C para conferir complexidade e ajuste de cor da bebida.

**Figura 11** - Lúpulo Cascade em Pellet utilizado na brassagem



Fonte: Autor.

**Figura 12** - Candi syrup vermelho caseiro

#### 4.2.4.6 Resfriamento

Após finalizada a fervura, o mosto submetido ao resfriamento por contra fluxo, a água quente reutilizada para a sanitização das bombonas atóxicas, com Iodo 2%, e 12 litros de mosto final foram divididos para cada biorreator.

**Figura 13** - Processo de resfriamento por chiller de contra fluxo



Fonte: Autor.

#### 4.2.4.7 Fermentação

A fermentação ocorreu de maneira simultânea, onde o mesmo mosto foi dividido igualmente para dois biorreatores idênticos, previamente sanitizados. Cerca de 12 litros de mosto resfriado foi transferido, aerado manualmente e receberam separadamente os fermentos correspondentes. A figura 14 ilustra os biorreatores dispostos no freezer com controlador ajustado à 26°C , temperatura de fermentação estática para o processo escolhido. O processo levou 6 dias para ser completado.

**Figura 14** - Biorreatores.



Fonte: Autor.

#### **4.2.4.8 Maturação**

As cervejas foram maturadas a uma temperatura de 1°C durante 5 dias. Com objetivo de clarificar proteínas e diminuir a turbidez causada pela própria levedura em suspensão. Os resultados desta clarificação serão apresentados pela turbidimetria executada por método espectrofotométrico .

#### **4.2.4.9 Envase (Priming)**

Ao fim da maturação, foi adicionado uma solução de priming com uma quantidade de açúcar de 5,5g/L e 100ml de água fervidos por 5 minutos, adicionados à cerveja clarificada. Para obter um volume de CO<sub>2</sub> dissolvido de aproximadamente 2,1 volumes de CO<sub>2</sub>/litro de cerveja, para manter as características históricas da bebida. Através da preparação da solução, foi adicionada ao balde de envase e em seguida, as garrafas previamente esterilizadas em autoclave e lodo 2%, foram encravadas para que ocorresse a refermentação em um período de 5 dias a uma temperatura de 25°C.

### **4.3 Acompanhamento Cinético da Fermentação**

O acompanhamento cinético foi realizado com análises periódicas duas vezes ao dia até o fim da fermentação. Todas as amostras tiveram o gás carbônico retirado com auxílio do bastão de vidro antes de serem analisadas.

Os sólidos totais solúveis foram determinados com auxílio do refratômetro de Brix, possibilitando o acompanhamento da evolução do consumo de açúcares, bem como a produção de álcool e CO<sub>2</sub> por ambas leveduras no mosto.

O acompanhamento da variação do pH foi feito com o potenciômetro da marca Quimis microprocessado de bancada, modelo 0400 MT como descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

Durante a cinética da fermentação as amostras foram separadas e congeladas, para que ao fim do processo de floculação das cepas, fossem

executadas o procedimento de Turbidimetria via Espectrofotômetro uv-vis, no comprimento de onda de 600nm indicado pela literatura, para acompanhar o crescimento e manutenção das células durante e após o processo.

#### **4.4 Análise Físico-Química do Produto Final**

A análise dos produtos finais foram executadas após 6 dias da fermentação na garrafa, após a retirada do gás com auxílio de um bastão de vidro, foram separadas e destinadas aos equipamentos específicos nos quais todas as temperaturas foram aferidas e corrigidas posteriormente.

A análise de gravidade específica foi realizada por um Densímetro de massa específica com proveta de 250ml, a amostra desgaseificada manualmente, até o equilíbrio da solução.

Para determinar o teor de açúcar em solução e o percentual da sacarose residual foi utilizado um Sacarímetro de Brix com proveta de 250ml, a amostra desgaseificada manualmente, até atingir o equilíbrio do equipamento.

Para a determinação de sólidos solúveis na solução final, foi utilizado o Refratômetro de Brix de bancada, medindo o índice de refração da amostra, a ser corrigido pela presença de álcool e outros metabólitos na mistura, que alteram o índice de refração da água com açúcares, o extrato primitivo esperado pela bebida.

A determinação do pH das cervejas foi executada pela técnica de medição de hidrogênio iônico com eletrodo de vidro sensível ao  $H_3O^+$  em solução, conhecido como pHmetro de bancada. Contando com sensor de temperatura e ajuste interno automático da medida, o fator  $-\log[H^+]$  já é corrigido e apresentado dentro da escala.

O teor alcoólico das amostras foi medido pela técnica de Ebulliometria, com ajuste de temperatura local para a ebulição da água, que se mantém em 99,4°C no local de análise.

A acidez total das amostras foram realizadas pelo método de Titulometria ácido-base, no qual foram submetidas triplicatas à titulação com NaOH padronizado contra HCl, utilizando fenolftaleína como indicador.

Por fim, as amostras foram submetidas à Espectrofotometria uv-vis para determinação da absorbância do feixe de luz pela amostra, de duas formas distintas. Para determinar a cor da bebida a ser convertida para a escala de SRM, as amostras após ser microcentrifuga por 10 minutos, foram observadas a absorbância em 430 nm, indicando sua cor.

Para a determinação da turbidez, indicando as células em suspensão, de acordo com a curva de calibração, vide apêndice, a amostra foi medida a absorbância em 600 nM, indicando a concentração de células presentes na cerveja final.

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1 Contagem de Células, Viabilidade e Vitalidade

#### 5.1.1 Contagem de Células e Viabilidade SafAle S-33

Para definir a viabilidade e vitalidade das leveduras, foi feita a contagem das mesmas, em soluções conhecidas, pelo método da câmara de Neubauer com microscópio de bancada em 40x10, ou seja, zoom de 400x.

Para a levedura de controle S-33, foi preparada a solução de 1,5081 g de fermento liofilizado com 10 ml de água esterilizada, dissolução 1:10. Usando como colorante celular o azul de metileno preparado com 0,1060g de reagente puro e 50ml de água (0,2%), nos quais foram utilizados para preparar a solução de células a ser contada.

Foram pipetados 0,1 ml solução inicial, mais 0,1 da solução de metileno e 9,8 mL de água destilada, resultando em uma dissolução de 1:100.

**Tabela 3.** Contagem das câmaras da Região C

CONTAGEM DE CÉLULAS S-33 ( NEUBAUER)						
Quadrantes	1	5	13	21	25	Total
Vivas	47	48	47	38	50	230
Mortas	10	13	22	13	8	66

A determinação da concentração inicial de células foi calculada pela equação:

$$\frac{N(\text{células vivas})}{\text{Campos contados}} \times \text{Diluição} \times 10 \times 10^5 = \text{células / ml} \quad (I)$$

Resultando em  $4,6 \times 10^9$  células/mililitro da solução inicial.

Este valor foi aplicado no cálculo de viabilidade, definido pela equação:

$$\text{Viabilidade} = \frac{(N \text{ total de células} - N \text{ de células mortas})}{N \text{ total de células}} \times 100\% \quad (II)$$

Resultando em uma viabilidade total de 77,7% do fermento, diferentemente do indicado pelo fabricante.

O teste de Vitalidade foi feito de forma qualitativa, utilizando uma solução de Iodo 2%, para determinar o poder de tintura do glicogênio celular presente nas células viáveis e saudáveis para iniciar a propagação. O fermento apresentou boa retenção da cor roxa do iodo devido a presença moderada de glicogênio intracelular, indicando uma saúde estável para iniciar a fermentação.

### 5.1.2 Contagem de Células e Viabilidade - YLB 1010- Kveik Voss

Para definir a viabilidade e vitalidade da levedura Kveik, foi feita a contagem da mesma, pelo mesmo método da câmara de Neubauer com microscópio de bancada em 40x10, zoom de 400x.

Para esta cepa, foi pipetada a solução do frasco, 0,1 ml de fermento líquido (meio nutritivo nitrogenado padrão) e 0,1ml de corante azul metileno (0,2%) e 9,8ml de água destilada, resultando em dissolução 1:100. Após a primeira contagem, o frasco de fermento já vencido, apresentou viabilidade próxima aos 10%, o que tornaria a fermentação totalmente inviável.

### 5.1.3 Padronização do Inóculo

Para elevar o número de células viáveis do Kveik Voss, ao padrão da levedura de controle, é estimado a necessidade para um ale, o valor de 0,75 milhões de células/mL.°P (WHITE; ZANAISHEFF, 2010). Para este trabalho foi escolhido de 0,50 milhões de células por mL de mosto por grau °Plato, representados por 0,50M/mL/°P, onde °Platô corresponde a unidade de sólidos solúveis totais, calculados como Brix inicial. Com auxílio de uma calculadora digital, descrita por (VAN DEN BERG,2003) foram estimados a necessidade de 400ml de mosto à 1,036 OG ou 9 Brix , preparada com 40g de DME, contando com aeração constante promovida por agitação magnética e uma barra, dentro do erlenmeyer previamente fervido e esterilizado.

Após 2 dias de agitação as leveduras finalizaram o consumo de açúcares do meio de cultivo, onde posteriormente foram submetidas a uma nova contagem e determinação de viabilidade. O mesmo método foi repetido e os resultados estão expressos na tabela 4.

**Tabela 4.** Contagem das câmaras da Região C para o Kveik

CONTAGEM DE CÉLULAS Kveik ( NEUBAUER)						
Quadrantes	1	5	13	21	25	Total
Vivas	43	45	44	35	47	214
Mortas	1	2	2	3	2	10

A determinação da concentração de células do meio propagado foi calculada pela equação (I) resultando em  $4,28 \times 10^9$  células/mililitro da solução a ser inoculada aos 12 litros de mosto.

A viabilidade da colônia foi calculada pela equação (II) , resultando em 95,5% de células vivas , revelando que o método de starter fora bem sucedido e o inóculo estaria próximo à concentração necessária para execução do pitch sobre a batelada, determinada para uma sub inoculação para promover maior produção dos subprodutos de aroma e sabores da cerveja final.

A vitalidade da colônia é feita de forma qualitativa ,utilizando a solução de lodo 2%, para determinar o poder de tintura do glicogênio celular presente nas células viáveis e saudáveis para iniciar a propagação. O fermento apresentou

excelente retenção da cor roxa do iodo, indicando uma excelente saúde para iniciar a fermentação.

## **5.2 Cinética de Fermentação**

O acompanhamento cinético foi feito por alíquotas coletadas, após agitação manual do reatores e contando com a agitação natural do processo fermentativo intenso, ainda apresentam pequena quantidade de erros de amostragem. O método de coleta foi feito pelas torneiras inferiores dos reatores com a ajuda do expurgo de CO<sub>2</sub> para conter uma possível contaminação do produto. As torneiras utilizadas contam com sistema de antirefluxo e portanto evitam que a cerveja retorne para dentro.

Durante o acompanhamento cinético, foram aplicadas as técnicas de pHmetria para acompanhar o poder de acidificação das cepas. A técnica de Refratometria de Brix, para acompanhar a evolução do consumo de substrato, e portanto a geração de EtOH e CO<sub>2</sub>, bem como a diminuição da densidade aparente do meio. A técnica de Turbidimetria pelo Espectrofotômetro Uv-vis foi escolhida, para determinar o crescimento e manutenção das células antes, durante e depois do processo fermentativo primário, pois pequenas alíquotas são capazes de determinar a quantidade de células presentes no meio sem a necessidade da execução da contagem por Câmara durante todas as amostragens ao longo dos dias . Todos os resultados serão apresentados em tabelas e gráficos a seguir.

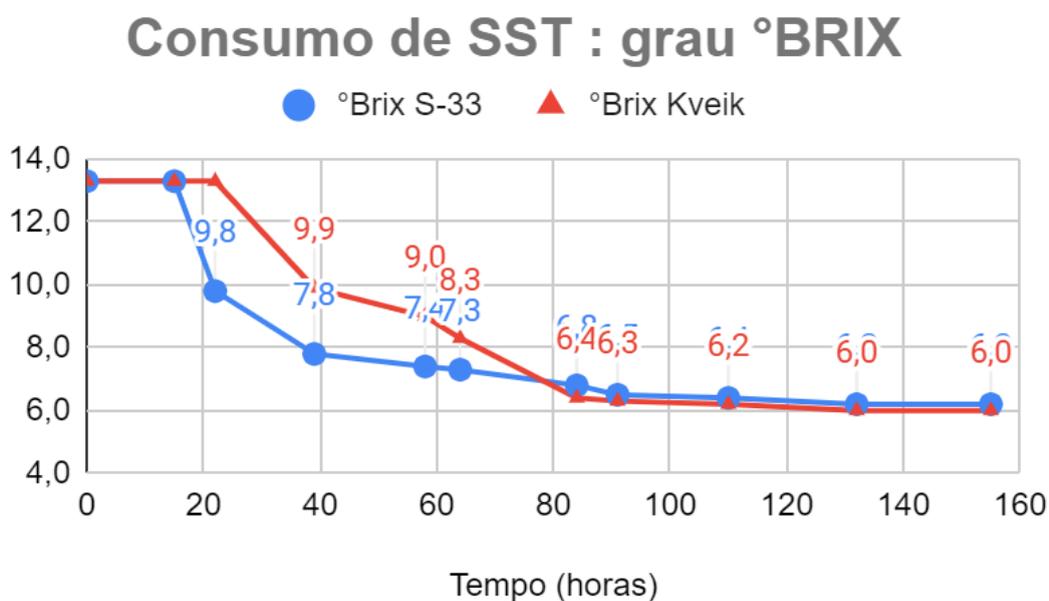
### **5.2.1 Cinética de evolução: grau °BRIX, Densidade e Teor Alcólico**

Os horários das coletas, disposto em horas após a inoculação que ocorreu às 19h00min do dia 27/05/2022, juntamente com suas alíquotas evoluindo o consumo de açúcares medido por Brix, já com seus respectivos ajustes de temperatura, estão disposto na tabela 5, a seguir.

**TABELA 5.** Evolução da Fermentação em termos de Consumo de SST

DECAIMENTO DE °BRIX (SST)		
Tempo (horas)	°Brix S-33	°Brix Kveik
0	13,3	13,3
15	13,3	13,3
22	9,8	13,3
39	7,8	9,9
58	7,4	9,0
64	7,3	8,3
84	6,8	6,4
91	6,5	6,3
110	6,4	6,2
132	6,2	6,0
155	6,2	6,0

Observada a tabela, pode-se traçar uma curva comparativa para viabilizar a visualização do processo de evolução do consumo de açúcares como parâmetro cinético; Notam-se as nuances entre os tempos de reprodução entre cada uma das cepas, apresentado na figura 11.

**Gráfico 1.** Curva comparativa cinética : grau °BRIX vs. Tempo(h)

De posse das curvas, observam-se diferentes tempos de adaptação e crescimento das cepas durante a fase aeróbia de respiração e brotamento das cepas, bem como a sua velocidade de consumo do substrato durante a fase de manutenção anaeróbia, cujo o fermento de controle apresentou maior adaptabilidade ao meio, iniciando o processo mais rapidamente, enquanto que o Kveik nota-se uma fase lag mais longa e uma velocidade mais elevada para consumir todos açúcares redutores do substrato, além de 0,2 pontos de BRIX abaixo da cepa controle. Ilustrando um maior poder enzimático para quebra das cadeias poliméricas dos açúcares do mosto, aumentando o teor alcoólico da bebida e diminuindo o teor residual, apresentando uma bebida mais seca e agradável.

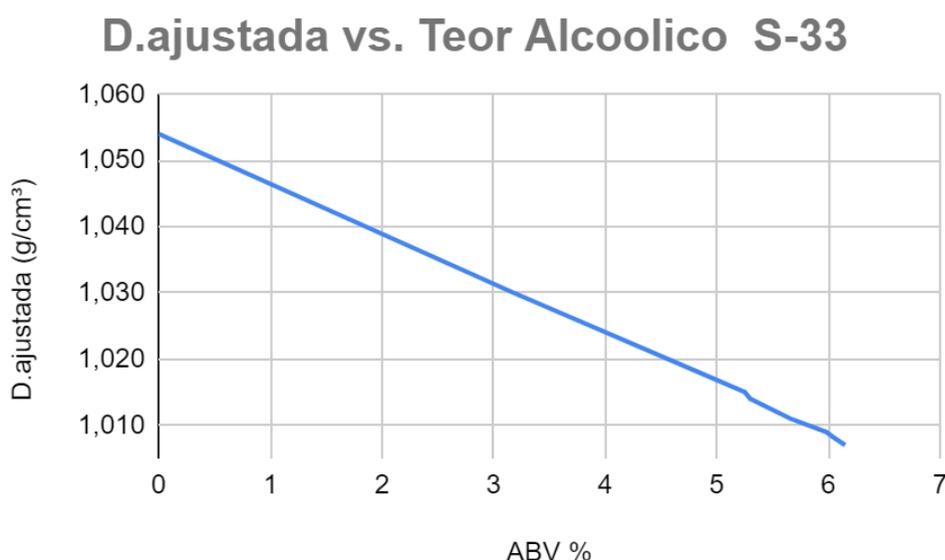
Faz-se necessário executar a correção para densidade e a produção de álcool; Uma vez que EtOH defleca os valores do Brix e portanto o °Platô do mosto, faz-se necessário corrigi-los pelas equações (V) e (VI), onde os valores estão apresentados na tabela 6 a seguir.

**Tabela 6.** Correção de Densidade e Teor Alcoólico para °Brix

Ajuste de Densidade, Grau Plato, Teor alcoólico								
Levedura controle S-33					Levedura Kveik Voss			
Tempo (horas)	°Brix S-33	Densidade	D.ajustada	Teor Alcoólico %	°Brix Kveik	Densidade	D.ajustada	Teor Alcoólico %
0	13,3	1,054	1,054	0,00%	13,3	1,054	1,054	0,00%
15	13,3	1,054	1,054	0,00%	13,3	1,054	1,054	0,00%
22	9,8	1,039	1,030	3,18%	13,3	1,054	1,054	0,00%
39	7,8	1,031	1,018	4,84%	9,9	1,040	1,031	3,10%
58	7,4	1,029	1,015	5,25%	9,0	1,036	1,025	3,85%
64	7,3	1,029	1,014	5,30%	8,3	1,033	1,021	4,43%
84	6,8	1,027	1,011	5,66%	6,4	1,025	1,009	5,98%
91	6,4	1,025	1,009	5,98%	6,3	1,025	1,008	6,06%
110	6,3	1,025	1,008	6,06%	6,2	1,024	1,007	6,15%
132	6,2	1,024	1,007	6,15%	6,0	1,024	1,006	6,30%
155	6,2	1,024	1,007	6,15%	6,0	1,024	1,006	6,30%

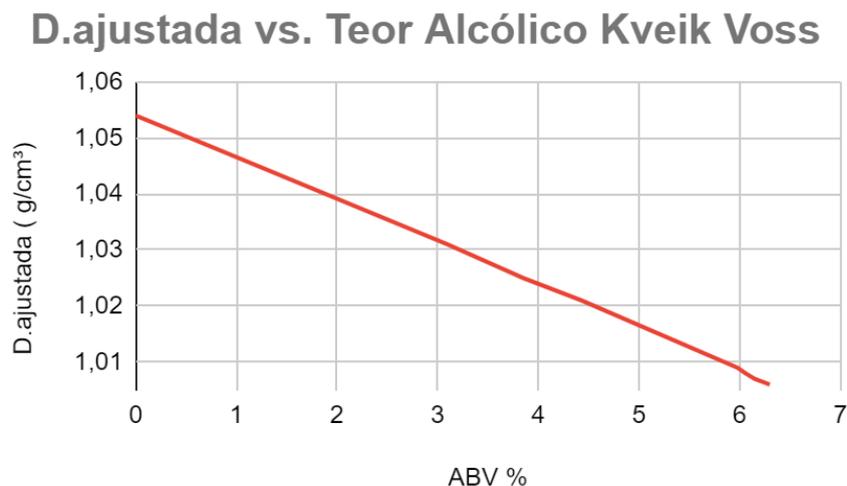
Na tabela, observam-se pontos com repetidas medidas no teor do Brix ajustados para a temperatura das medidas, essa prática é utilizada para garantir que o fermento não esteja estancado e não reste açúcares residuais ao final do processo. Vale ressaltar que as repetidas amostragens continuaram, pois por conta da constante evolução do pH e turbidez do mosto, portanto, devem-se continuar as coletas. Após feitas as correções de leitura é possível traçar um gráfico para estabelecer a relação entre a densidade ( $\text{g/cm}^3$ ) e teor alcoólico %abv durante o processo de fermentação para observar a relação entre consumo de substrato e a produção de álcool.

**Gráfico 2- Relação de Densidade vs. teor alcoólico S-33**



Feitas as devidas correções de leitura é possível traçar um gráfico para estabelecer a relação entre a densidade ( $\text{g/cm}^3$ ) e teor alcoólico %abv para a fermentação do kveik, analogamente, plotado no **gráfico 3**. Para observar a relação entre consumo de substrato e a produção de álcool, a fim de comparar o poder de ambas as cepas.

### Gráfico 3- Relação de Densidade vs. teor alcólico Kveik Voss



Esta técnica de plotagem, permite uma visualização mais clara sobre a perspectiva do consumo de açúcares que geram EtOH durante o processo, interferindo diretamente na densidade específica, o que impossibilita que este acompanhamento seja feito apenas pela leitura do Brix do mosto durante a fermentação.

#### 5.2.2 Evolução do poder de acidificação das cepas

A tabela 7 ilustra a cinética da variação de PH do processo adaptativo e fermentativo das cepas, que se mostram bastante distintas e que ao final do processo geram produtos com diferentes valores de Ph e portanto, diferente acidez total, impactando diretamente no sensorial do produto.

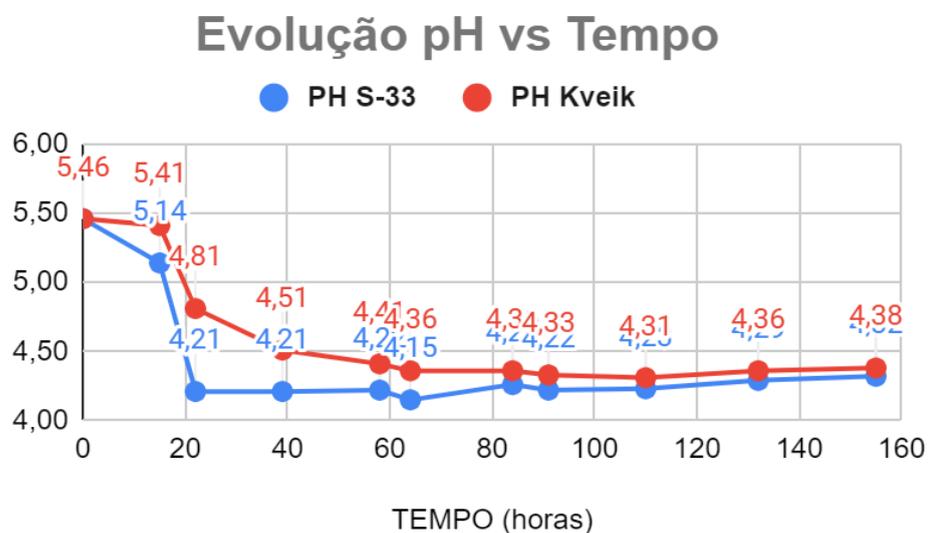
**Tabela 7** - Variação de Ph das cepas durante a fermentação

Evolução do pH		
TEMPO (horas)	PH S-33	PH Kveik
0	5,46	5,46
15	5,14	5,41
22	4,21	4,81
39	4,21	4,51
58	4,22	4,41

64	4,15	4,36
84	4,26	4,36
91	4,22	4,33
110	4,23	4,31
132	4,29	4,36
155	4,32	4,38

O gráfico 12 ilustra a curva comparativa das duas cepas quanto ao poder da acidificação do meio, mensurado por PHmetria, plotados a partir da tabela 7, indicando a evolução constante da produção e consumo de ácidos solúveis durante o processo fermentativo. Nota-se que o valor de pH não é exatamente proporcional à acidez total e portanto a técnica limita-se em medir a quantidade de H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> (hidrogeniônico) presente.

**Gráfico 4-** Curva comparativa da Variação de Ph ( - log [ H<sup>+</sup>]) durante o processo



Diante dos dados cinéticos do parâmetro de acidez, nota-se uma constante variação de acidez medida por hidrogeniônico disperso no meio, indicando a formação e consumo constante dos ácidos orgânicos liberados pelas células durante a fase anaeróbia.

A cepa de controle, mostrou alto poder de acidificação na sua fase de aeróbica, indicando alta taxa de reprodução celular e posteriormente na fase anaeróbica, trabalhando na manutenção dos compostos gerados durante a produção de álcool e gás carbônico, gerando uma bebida ligeiramente mais ácida que o Kveik produz no final. Este que se apresenta com maior teor de consumo de sólidos e produção de álcool por sua vez, indica uma menor necessidade de se reproduzir acidificando o mosto e é capaz de passar por sua fase anaeróbica liberando menos ácidos orgânicos à cerveja, o que pode gerar um bebida mais agradável e equilibrada.

### 5.2.3 Turbidimetria e a Variação da concentração de células no meio

A técnica turbidimétrica (BORTOLI,2013) foi escolhida para o acompanhamento da concentração celular presente no substrato. Essa técnica é utilizada para que o acompanhamento desta manutenção não necessite de uma recontagem sucessiva das células pela câmara de Neubauer em microscópio.

O Espectrofotômetro uv-vis é o equipamento utilizado, com método de absorbância na região de luz visível, no comprimento de onda de 600nm, possível monitorar pela turbidez da amostra, a concentração de células, uma vez que a solução mãe tenha sido contada e uma curva de calibração( presente no apêndice) para o meio seja plotada para validar a linearidade do método.

A tabela 7. mostra a comparação entre as medições de turbidez em 600nm do meio durante o acompanhamento cinético da fermentação.

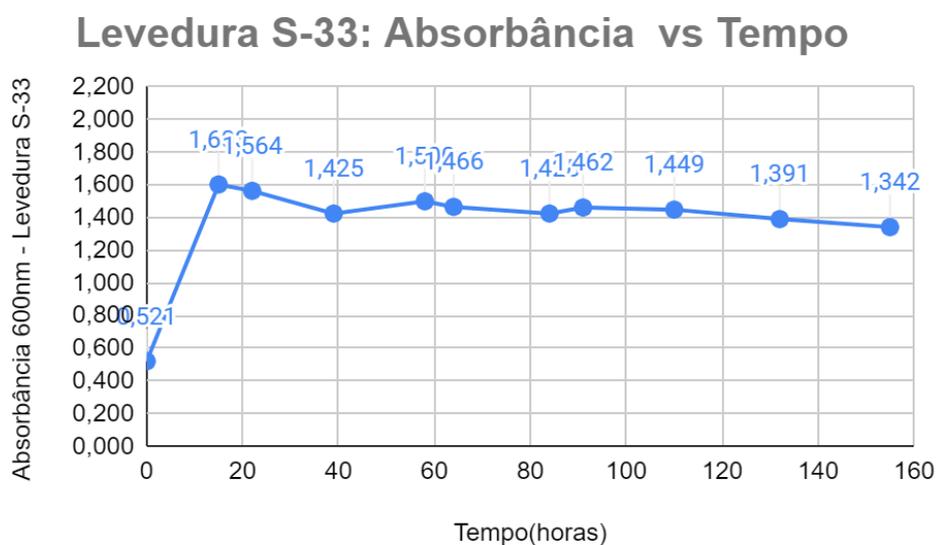
**Tabela 8.** Medidas de absorbância por tempo

<b>TURBIDIMETRIA - ESPECTROFOTÔMETRO uv-vis (600nm)</b>			
<b>Levedura S-33</b>		<b>Levedura Kveik Voss</b>	
Tempo (horas)	Absorbância	Tempo (horas)	Absorbância
0	0,521	0	0,521
15	1,603	15	0,753
22	1,564	22	1,532
39	1,425	39	1,635
58	1,500	58	1,597
64	1,466	64	1,530

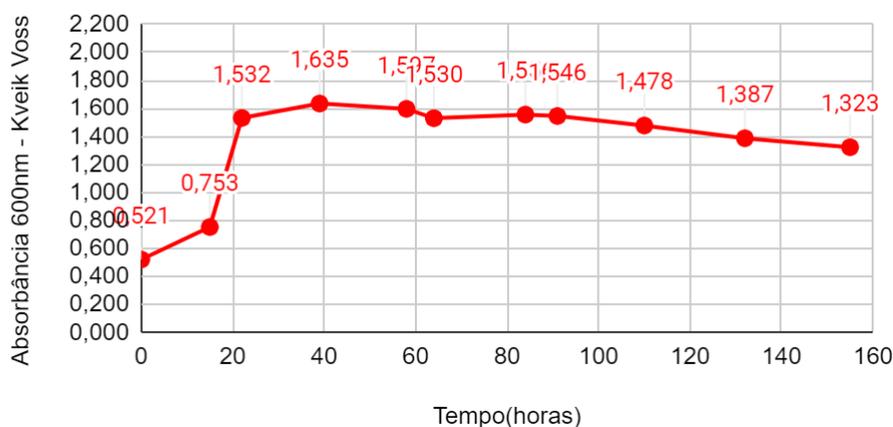
84	1,425	84	1,556
91	1,462	91	1,546
110	1,449	110	1,478
132	1,391	132	1,387
155	1,342	155	1,323

Nota-se que a tabela conta com um dado inicial do mosto pré fermentação, que foi usado como ponto de calibração para zero absorvância do meio, a fim de atenuar a interferência em que as proteínas e açúcares em suspensão pudessem causar na leitura dos dados de absorvância. Destes dados, foram traçadas duas curvas ilustrando a variação da concentração de células inicial, da fermentação e ao final do processo. As figuras 13 e 14 representam as curvas para cada uma das cepas.

**Gráfico 5 - Absorvância levedura S-33**



O valor de 0,521 indica a absorvância inicial do mosto pré fermentação, onde o equipamento foi zerado e a partir dele, as amostragens foram executadas. O mesmo vale para figura 14. A partir dos dados obtidos de absorvância, é possível relacionar com a diluição pela curva de calibração criada ( 7.1) e relacionar os valores para a concentração de células presentes no meio.

**Gráfico 6 - Absorbância levedura Kveik Voss****Levedura Kveik Voss: Absorbância vs. Tempo**

Ao final do processo a maior parte das células começam entrar em estado estacionário e iniciam o processo de decantação, diminuindo a turbidez do meio. Este processo dificulta uma amostragem precisa e pode conter erros devido a homogeneização do produto, bem como a presença de proteínas não consumidas ou não decantadas em cada amostra retirada, devido ao seu pequeno volume.

Ambas as cepas se apresentam uniformemente saudáveis e indicam que o processo foi bem sucedido quanto à presença das células executando o trabalho fermentativo, pois o perfil é constante e não apresenta grandes outliers.

Vale ressaltar que os valores finais de absorbância não estão plotados na curva; Foram medido após 5 dias de decantação a frio, chamado de cold crash, onde a baixa temperatura de 1°C é capaz de acelerar a decantação das células e proteínas em suspensão, deixando a bebida cristalina, para um melhor acabamento do produto final.

A levedura de controle SafAle S-33, apresentou um valor de 0,053 de absorbância no dia do envase, enquanto que o Kveik voss, apresentou 0,163 de absorbância na mesma faixa, indicando menor poder de floculação do fermento em relação ao controle, gerando um produto levemente mais turbido, o que já é esperado para o estilo de cerveja do local de origem e domesticação do Voss.

### 5.3 Análise Físico Química do produto final

#### 5.3.1 Análise Físico Química do produto final S-33

A cerveja final foi submetida às análises físico-químicas padronizadas para cervejas, para determinar suas características finais após a refermentação na garrafa. Todas as amostras foram tratadas os valores corrigidos para as temperaturas indicadas, com suas respectivas conversões.

As amostras de ambas as bebidas foram testadas por Densímetro de massa específica, Sacarímetro de Brix, Refratômetro de Brix, Phmetro digital, Ebulliômetro, determinação de cor por Turbidez de absorvância em 430 nM e acidez total por titulação ácido base utilizando NaOH como titulante.

Os valores das análises serão apresentados nas tabela 15 para o fermento S-33 e na tabela 16 para o fermento Kveik , e discutidos posteriormente.

**Tabela 9-** Análise físico química cerveja final S-33

Metodologia de Análise para produto Final - Belgian S-33					
Equipamento	Volume(amostra)	Temperatura °C	Medidas	Correção	Unidades
Densímetro massa	250ml	19,9	1,008	<b>1,008</b>	<b>g/cm<sup>3</sup></b>
Sacarímetro BRIX	250ml	19,9	2,50	<b>1,97</b>	<b>°Plato</b>
Refratômetro de Brix	1ml	25,0	6,20	<b>6,2</b>	<b>°Brix</b>
Ph metro	50ml	16,5	4,01	<b>4,01</b>	
Ebulliômetro	50ml	94,4	6,14	<b>6,35</b>	<b>% abv</b>
Acidez Total	10ml	25,0	8,26ml	<b>118,2</b>	<b>mEq/L</b>
Determinação de Cor	3ml	430nM	0,348	<b>4,41</b>	<b>SRM</b>
Determinação de Floculação	3ml	25,0	0,089	<b>0,089</b>	<b>600nM</b>

A cerveja final do fermento S-33 teve suas análises de extrato final (SST) executadas em uma proveta de 250ml com sacarímetro e densímetro mergulhados na solução livre de CO<sub>2</sub> residual medido em 1,008 g/cm<sup>3</sup> e corrigido para 1,97 °Plato.

O refratômetro de bancada recebia da mesma amostra, uma pipeta de 1ml sobre o prisma, onde recebia a leitura de Brix e temperatura para ajuste posterior, que mediu 6,2 Brix.

O phmetro foi utilizado com a mesma amostra, sob um béquer de 50ml revelando pH 4,01. E posteriormente o mesmo béquer seria dosado ao Ebuliometro para análise , mostrando um teor alcoólico de 6,25% ABV. Nota-se um valor de 0,2% acima dos medidos ao final da maturação, pois a refermentação na garrafa aumentou o teor final de álcool.

O método para determinação de acidez total, foi por titulação ácido base utilizando NaOH 0,151 mol.L<sup>-1</sup>, padronizado previamente e contou com fenolftaleína 2% como indicador de viragem. A média das triplicatas foi de 7,83 mL consumidos de NaOH. Revelando um valor de 118,2 mEq/L pela equação (IV).

Para a determinação de cor, as amostras foram centrifugadas em mini centrífuga para eppendorfs, e posteriormente medida sua absorbância no espectrofotômetro ajustado para 430nm. O valor medido foi 0,348

Por fim, para determinar a capacidade natural de floculação do fermento, a amostra de cerveja foi servida em um balão ,homogeneizada e sua absorbância medida do espectrofotômetro ajustado para 600 nm, cujo valor medido foi 0,089.

Pela equação (VII) é possível determinar que sua cor é de 4,41 SRM.

### 5.3.2 Análise Físico Química do produto final Kveik Voss

**Tabela 10-** Análise físico química cerveja final Kveik Voss

Metodologia de Análise para produto Final - Kveik VOSS					
Equipamento	Volume(amostra)	Temperatura °C	Medidas	Correção	Unidades
Densímetro massa	250ml	25,2	1,006	<b>1,006</b>	<b>g/cm<sup>3</sup></b>
Sacarímetro BRIX	250ml	25,2	2,10	<b>1,65</b>	<b>°Plato</b>
Refratômetro de Brix	1ml	25,5	6,00	<b>6,30</b>	<b>°Brix</b>
Ph metro	50ml	26,3	4,20	<b>4,2</b>	
Ebuliômetro	50ml	94,2	6,20	<b>6,50</b>	<b>% abv</b>
Acidez Total	10ml	25,0	8,26 ml	<b>124,7</b>	<b>mEq/L</b>
Determinação de Cor	3ml	430nm	0,385	<b>4,89</b>	<b>SRM</b>
Determinação de Floculação	3ml	25,0	0,119	<b>0,119</b>	<b>600nm</b>

Analogamente ao controle, a cerveja final do Kveik teve suas determinações de sólidos (SST) executadas em uma proveta de 250ml com sacarímetro e densímetro mergulhados na solução livre de CO<sub>2</sub> residual medido em 1,006 g/cm<sup>3</sup> e corrigido para 1,65 °Plato

O refratômetro de bancada recebia da mesma amostra, uma pipeta de 1ml sobre o prisma, onde recebia a leitura de Brix e temperatura para ajuste posterior, medindo 6,0 Brix .

O phmetro foi utilizado com a mesma amostra, sob um béquer de 50ml ,medindo pH4,2, ligeiramente mais básico que a cerveja de controle.

Posteriormente seria dosado ao Ebuliometro para análise de teor alcoólico final revelando 6,50% abv , igualmente com 0,2% acima da cerveja pós maturação.

O método para determinação de acidez total, foi por titulação ácido base utilizando NaOH 0,151 mol.L<sup>-1</sup>, padronizado previamente e contou com fenolftaleína 2% como indicador de viragem. A média das triplicatas foi de 8,26 mL consumidos de NaOH. Revelando um valor de 124,7 mEq/L pela equação (IV) um pouco mais elevado que a cerveja controle. Ressaltando que o valor de Ph tenha sido mais básico para a cepa Kveik, a sua acidez é maior em termos totais.

Para a determinação de cor, as amostras foram centrifugadas em mini centrífuga para eppendorfs, e posteriormente medida sua absorbância no espectrofotômetro ajustado para 430nm. O valor medido foi 0,385 que revela uma cerveja ligeiramente mais “escura” que a própria cepa de controle.

Pela equação (VII) é possível determinar que atingiu a cor de 4,89 SRM.

Por fim para determinar a capacidade natural de floculação do Kveik a amostra de cerveja foi servida em um balão ,homogeneizada e sua absorbância medida do espectrofotômetro ajustado para 600 nm, cujo valor medido foi 0,119, que revela-se menos floculante que a cepa controle, que visualmente tornou-se mais turva e palatável, mostrando um poder floculante menor que a levedura S-33.

**Figura 15.** Cerveja final SafAle S-33 à esquerda e Kveik Voss à direita



Fonte:Autor

#### **5.4. Discussão Sensorial e impacto do produto final**

De posse dos resultados da análise físico químico, foram feitas análises sensoriais por três profissionais com conhecimento técnico para ambas as cervejas, a fim de gerar discussões e resultados dos impactos das técnicas de produção adotadas para o trabalho. De forma geral as bebidas apresentaram características de sabor e aroma muito distintas, assim como colorações diferentes, percepção alcoólica, palatabilidade do corpo e sensação de balanço de amargor com o dulçor geral.

A cepa Belga SafAleS-33, desempenhou um bom papel durante a cinética, não apresentou grandes problemas em seus dados de qualquer uma das análises executadas. Mostrou-se mais rápida na adaptação e mais lenta na fase fermentativa, e a sua capacidade de reduzir os açúcares, foi levemente menor em relação ao kveik. A cerveja produzida por ela ao ser aberta, mostrou-se cristalina, com amarelo claro brilhante, boa formação e retenção de espuma branca e consistente, de bolhas finas e um frisante elegante. No aroma surge a percepção do álcool indicando possível stress, juntamente dos aromas de banana e frutas passadas dos ésteres, o

lúpulo com um backbone delicado de herbais e florais, mas o destaque fica para a base maltada que remete à pães, biscoitos e cereais frescos.

Na boca a cerveja parece encorpada, aquece pela presença de álcool, é levemente desbalanceada no quesito de dulçor, o que é esperado pois a cepa consumiu menos açúcares. O amargor se mantém equilibrado sem harshness e o aroma do lúpulo não é presente. Mais uma vez, a base de maltes é dominante e os sabores de pães e cereais são mais perceptíveis.

A cepa se mostrou fragilizada pela alta temperatura, mesmo que a faixa dos 26°C esteja dentro do parâmetro indicado pela fabricante, ainda assim é elevado para variantes tradicionais das *Saccharomyces domesticadas*.

A cerveja produzida pelo Kveik Voss, ao ser aberta revelou um produto com turbidez moderada e elegante, em uma cor amarela profunda, levemente mais escura que o controle. A formação de espuma é abundante e a retenção extremamente duradoura, que se apresenta com bolhas finas e cremosas.

No aroma a cerveja apresenta um frutado intenso, tomado por notas de frutas amarelas frescas, como manga, laranja, pêssegos e leve floral do lúpulo, sem presença de álcoois fuseis, onde a base maltada fica menos evidente sob todos os aromas da fermentação, muito agradáveis. Na boca a cerveja tem sensação seca e um corpo que preenche a boca, a secura ideal tornou a bebida com alta Drinkability, vontade de beber. Os sabores dos maltes são presentes, equilibrados e sem dulçor, o amargor é levemente mais elevado e pode trazer um leve harshness, dada a ausência de açúcares residuais, que foram consumidos pela cepa mais violenta.

A cepa se mostrou muito eficiente no quesito velocidade e termotolerância, entregando uma bebida agradável, elegante e equilibrada. As análises físico-química revelaram diferenças consideráveis na forma de trabalho de ambas as cepas, o que mostra boas vantagens genéticas desta variante domesticada é multada ao longo dos anos de trabalho contra a grande variação de temperatura e umidade do seu local de origem. O seu produtor Sigmund Gjernes, responsável cervejeiro da família local que cultivou a cepa em Voss por séculos, afirma que as temperaturas de trabalho podem chegar até 35°C durante o verão, sugerindo cervejas ainda mais frutadas e conseqüentemente ainda mais rápidas para finalizar todo o processo.

## 6. Considerações Finais

De acordo com os resultados das análises físico químicas e sensoriais não oficiais, pode-se afirmar que a receita desenvolvida foi bem sucedida, pois gerou um bom parâmetro de neutralidade, suportando os aromas e sabores gerados durante a fermentação, fornecendo nutrição e estrutura necessárias para que as cepas trabalhassem saudavelmente, gerando resultados consistentes ao estudo.

As cervejas não apresentaram contaminações cruzadas por outros microorganismos, atestando que as técnicas de produção foram bem executadas. Apresentam bom equilíbrio de sabores e aromas, espuma e encorpamento na boca.

A cepa SafAle S-33, foi escolhida de maneira assertiva para não criar um trabalho tendencioso com valores discrepantes entre a cepa alvo da análise. Mostrou-se altamente adaptável ao substrato e trabalhou com alta velocidade, indicando que o fator chave de tempo de trabalho é a temperatura. Enquanto que desenvolveu um produto levemente desbalanceado quando comparado ao kveik, onde mostrou-se menos termotolerante no que tange a formação de subprodutos.

A cepa Kveik Voss, por sua vez, entregou uma alta velocidade de trabalho também, considerado pela alta temperatura de fermentação. Porém esta, gerou um produto límpido e agradável, mais equilibrado e palatável sugerindo que as cepas da região da noruega, não são exatamente mais rápidas como sugerido popularmente e sim, muito termotolerantes, portanto, produzem cervejas muito agradáveis de aromas frutados e sem a presença de off-flavors e álcoois fuseis provenientes de stress fermentativo.

Os testes de parâmetros cinéticos foram bem sucedidos e todos seguiram os protocolos descritos pelo IAL(2008) e Anvisa, portanto, validados para apresentar veracidade de resultados. Os valores apresentados nas curvas foram executados por cálculos em software Excel, revelando resultados precisos e assertivos.

O estudo, revela a necessidade da execução de uma análise sensorial técnica e ampla, para a definição do impacto geral que a levedura Kveik Voss, apresenta ao produto final, haja visto suas qualidades genéticas para geração de aromas distintos e sabores agradáveis em condições de alta temperatura.

Ainda sugere-se que estudos posteriores, acrescentem mais técnicas de

análises de ésteres , óleos essenciais e polifenóis, para gerar resultados mais concisos e precisos da interação deste fermento , com os óleos dos lúpulos, e seus precursores de aromas. Podendo ser trabalhado em diferentes faixas de temperaturas elevadas até 35°C como sugerido pelo fazendeiro Sigmund Gjernes, responsável pela tradição cervejeira de Voss, Noruega.

## 7. Referências

Agência nacional de vigilância sanitária. **ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA**. Resolução da diretoria colegiada- RDC Nº 15, de 15 de março de 2012.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na produção de alimentos**. Ed. Edgard Blucher, v. 4, cap. 4, 2ª reimp, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16 ed., v. 2. Washington, AOAC, 2006.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E. **Biotecnologia Industrial: Fundamentos**. Ed. Edgard Blucher, v. 1, cap 5, 2ª reimp, 2008.

BORTOLI, Daiane A. da S. et al. **Leveduras e produção de cervejas-Revisão**. Bioenergia em Revista: Diálogos (ISSN: 2236-9171), v. 3, n. 1, p. 45-58, 2013.

BRASIL, Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 4ª ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2013. 153 p.

CLEMINTINO, Lorena Santos et al. **Avaliação Da Cinética De Fermentação De Diferentes Leveduras Comerciais Para Produção De Cerveja Tipo Pale Ale**. Jornada de Iniciação Científica e Extensão, v. 15, n. 1, p. 51, 2020.

DANIELS, R.; **Designing Great Beers: The Ultimate Guide to Brewing Classic Beer Styles**. Brewres Publications, 1996.

FARZANEH, Vahid et al. The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. **International journal of biological macromolecules**, v. 94, p. 663-668, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 1 ed. Online. São Paulo: IAL, 2008.

NACHEL, M.; **Homebrewing for Dummies**. Wiley Publishing, Inc, 2nd Edition, 2008.

PALMER, J.J. **How to Brew: Everything You Need to Know to Brew Beer Right the First**, Brewers Publications, 3rd edition, page 59, 2006.

PALMER, J.J. **Water: A Comprehensive Guide for Brewers**, Brewers Publications, 3rd edition, page , 2013.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas: Bebidas alcoólicas. v. 1.** São Paulo: Blucher, 2010.

GARSHOL, Lars Marius. **Historical Brewing Techniques: The Lost Art of Farmhouse Brewing: Paperback** , 2020.

PREISS, R., C. Tyrawa, K. Krogerus, L. M. Garshol, and G. van der Merwe. **“Traditional Norwegian Kveik Are a Genetically Distinct Group of Domesticated.”** Front Microbiol 9, 2018.

GARSHOL, Lars Marius **“Fermentation Times in Traditional Farmhouse Brewing, Journal of the American Society of Brewing Chemists”** DOI: 10.1080/03610470.2021.1945377, 2021.

KITS, Dimitri; GARSHOL, Lars Marius. **Norwegian Kveik brewing yeasts are adapted to higher temperatures and produce fewer off-flavours under heat stress than commercial *Saccharomyces cerevisiae* American Ale yeast.** bioRxiv, 2021.

PREISS, Richard et al. **Traditional Norwegian Kveik are a genetically distinct group of domesticated *Saccharomyces cerevisiae* brewing yeasts.** *Frontiers in microbiology*, v. 9, p. 2137, 2018.

SafAle™ S-33 - **Brewing yeast for fruity & hoppy beers** - Fermentis <<https://fermentis.com/en/products/safale-s-33/>>

YLB1010 - **Voss Kveik 01 - Ale** - Yeastlab Biotecnologia - <[www.yeastlab.com.br/produtos/ylb1010---voss-kveik-01](http://www.yeastlab.com.br/produtos/ylb1010---voss-kveik-01)>

KAWA-RYGIELSKA, Joanna et al. **The Potential of Traditional Norwegian KVEIK Yeast for Brewing Novel Beer on the Example of Foreign Extra Stout.** *Biomolecules*, v. 11, n. 12, p. 1778, 2021.

QUAIN, D. E.; TUBB, S. **A rapid and simple method for the determination of glycogen in yeast.** *Journal of the Institute of Brewing*, v. 89, n. 1, p. 38-40, 1983.

VAN DEN BERG, Steven; VAN LANDSCHOOT, Anita. Practical use of dried yeasts in the brewing industry. **Cerevisia**, v. 28, n. 3, p. 25-30, 2003.

DE LANGE, A. J. Color. In: **Brewing Materials and Processes**. Academic Press, 2016. p. 199-249.

NOVOTNY, P. Revisiting The Refractometer: **Improved fermentation monitoring through refractometry**. *Zymurgy* 2017, 40 (4), 48–54.

MEADEN, Philip G.; TAYLOR, Niina R. Cloning of a yeast gene which causes phenolic off-flavours in beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 97, n. 5, p. 353-357, 1991.

WHITE, Chris; ZAINASHEFF, Jamil. **Yeast: the practical guide to beer fermentation**. Brewers Publications, 2010.

## 8. Apêndices

### 8.1 Equação da determinação da concentração inicial de células

$$\frac{N(\text{células vivas})}{\text{Campos contados}} \times \text{Diluição} \times 10 \times 10^5 = \text{células / ml} \quad (I)$$

### 8.2 Equação do cálculo de viabilidade celular :

$$\text{Viabilidade} = \frac{(N \text{ total de células} - N \text{ de células mortas})}{N \text{ total de células}} \times 100\% \quad (II)$$

### 8.3 Curva de calibração Turbidimetria:concentração de células por absorbância

A suspensão mãe foi feita com 1,5 g de célula seca (comercial e liofilizada) em 15 ml de água para diluição de 10 vezes, como a solução recomendada pelo fabricante e também utilizada para a produção da cerveja de controle.

Em uma alíquota dessa amostra, foi realizada a contagem de células em câmara de Neubauer, apresentando o valor de  $4,6 \times 10^9$  células/g de fermento seco, sendo esse o valor experimental inicial, tomado por dissolução 1:100. Este valor difere do dado fornecido pelo fabricante que deveria ser  $6 \times 10^9$  células viáveis/g. Para tal, foi utilizado inicialmente o valor da contagem experimental, com a concentração de células conhecida, foi possível associá-la às absorbâncias medidas em espectrofotômetro a 600nm, para cada diluição da suspensão-mãe. As diluições foram obtidas pela equação (III).

$$\text{Concentração de células} = [C.i] / 10 / \text{Diluição} / 10^5 \quad (III)$$

Onde: C.: concentração de células calculada pela câmara de Neubauer

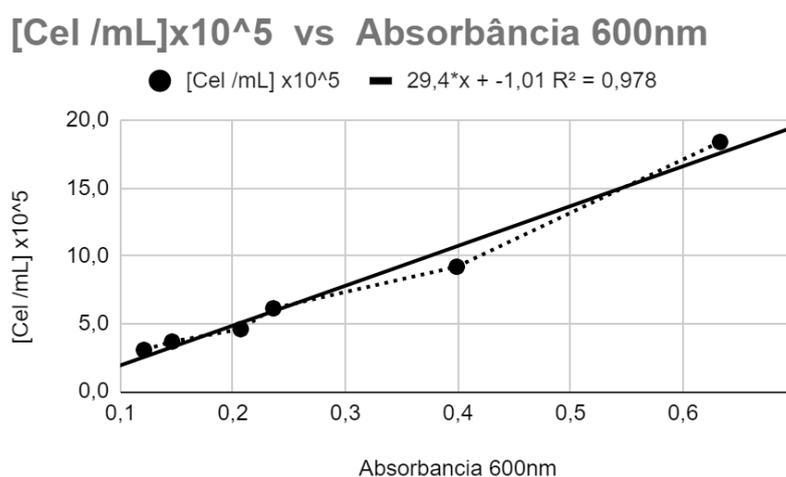
D: diluição da solução

Os dados obtidos estão apresentados na **Tabela 8.3**.

CURVA DE CALIBRAÇÃO 600nm		
Diluição	Absorbância 600nm	[Cel /mL] x10 <sup>5</sup>
250	0,633	18,4
500	0,399	9,2
750	0,236	6,1
1000	0,207	4,6
1250	0,146	3,7
1500	0,121	3,1

De posse da tabela foi possível , traçar um gráfico de tendência no qual a equação da reta foi obtida através de uma regressão linear automatizada dos dados. A partir da leitura da absorbância (eixo horizontal) de qualquer suspensão colhida durante o experimento, foi possível calcular o número de células.

**Gráfico 8.3 - Regressão para concentração de células através da turbidimetria.**



As diluições apresentadas na tabela 7.1 para que a absorbância medida estivesse dispostas 0.1000 e 0.6500, que é faixa de maior precisão indicada pelo equipamento utilizado para este trabalho.

#### 8.4 Acidez Total

Para fermentados alcoólicos a acidez total é expressa em meq/L , calculada pela fórmula abaixo:

$$\text{Acidez total} = n \cdot N \cdot 1000 / \text{Volume} \quad (IV)$$

Onde:

n: volume (mL) de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação.

N: normalidade da solução de hidróxido de sódio ( MM\*[C.sol])

V: volume (mL) da amostra.

#### 8.5 Correção de dados de Brix para Massa específica

Equação para conversão de Brix para densidade durante a fermentação (Novotny, 2017)

$$\text{Densidade ( FG)} = \text{Brix} / ( 258,6 - \text{Brix} / 258,2 * 227 * 1 ) + 1 \quad (V)$$

#### 8.6 Equação cálculo de ABV por gravidade

Equação para conversão de densidade inicial e final para determinar %ABV (Novotny, 2017)

$$\text{ABV} = (\text{og} - \text{fg}) * 131.25 \quad (VI)$$

## 8.7 Correção de Temperatura (°C) para Sacarímetro de Brix

TABELA DE CORREÇÃO SACARÍMETRO DE BRIX CALIBRADOS A 20° C											
Tempo de referência °C	GRAUS BRIX										Tempo de referência °C
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	
10	-0,32	-0,42	-0,52	-0,60	-0,67	-0,71	-0,74	-0,76	-0,80	-0,80	10
11	0,30	0,39	0,47	0,54	0,61	0,65	0,67	0,68	0,70	0,70	11
12	0,27	0,35	0,42	0,49	0,54	0,58	0,60	0,61	0,60	0,60	12
13	0,25	0,32	0,38	0,43	0,48	0,51	0,53	0,53	0,53	0,50	13
14	0,22	0,28	0,33	0,37	0,41	0,44	0,45	0,46	0,50	0,50	14
15	-0,20	-0,24	-0,28	-0,32	-0,35	-0,37	-0,38	-0,38	-0,40	-0,40	15
16	0,16	0,19	0,23	0,26	0,28	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	16
17	0,12	0,15	0,17	0,19	0,21	0,22	0,23	0,23	0,25	0,25	17
18	0,08	0,10	0,12	0,13	0,14	0,15	0,15	0,15	0,18	0,20	18
19	-0,04	-0,05	-0,06	-0,06	-0,07	-0,04	-0,08	-0,08	-0,10	-0,10	19
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
21	+0,05	+0,06	+0,06	+0,07	+0,07	+0,07	+0,08	+0,08	+0,10	+0,10	21
22	0,10	0,11	0,12	0,14	0,14	0,14	0,15	0,16	0,18	0,20	22
23	0,16	0,17	0,19	0,21	0,22	0,23	0,23	0,23	0,25	0,25	23
24	0,21	0,23	0,26	0,28	0,29	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	24
25	0,27	0,30	0,32	0,35	0,37	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40	25
26	+0,33	+0,36	+0,39	+0,42	+0,45	+0,46	+0,47	+0,47	+0,48	+0,48	26
27	0,40	0,42	0,46	0,50	0,53	0,54	0,55	0,55	0,56	0,56	27
28	0,46	0,49	0,54	0,57	0,61	0,62	0,64	0,64	0,64	0,64	28
29	0,54	0,56	0,61	0,65	0,69	0,70	0,72	0,72	0,72	0,72	29
30	0,60	0,63	0,68	0,73	0,77	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	30
31	+0,68	+0,70	+0,76	+0,81	+0,85	+0,87	+0,88	+0,88	+0,90	+0,90	31
32	0,75	0,78	0,84	0,90	0,94	0,95	0,97	0,97	1,00	1,00	32

Fonte : Incoterm ,manual de instruções Sacarímetro de Brix (.pdf)

## 8.8 Correção de Temperatura (°C) para densímetro de massa

Correção de Temperatura Densímetro			
Temperatura (°C)	Correção	Temperatura (°C)	Correção
10	-1,5	21	0,2
11	-1,4	22	0,4
12	-1,3	23	0,6
13	-1,2	24	0,9
14	-1,1	25	1,1
15	-0,9	26	1,4
16	-0,8	27	1,6
17	-0,6	28	1,9
18	-0,4	29	2,2
19	-0,2	30	2,5
20	0	31	2,8

Fonte : Lamas Brew Shop

**8.9 Equação de determinação de Cor em SRM pela absorbância em 430 nM pela aplicação da lei de Bouguer-Beer-Lambert (DE LANGE , 2016)**

$$SRM = 12.7 \times D \times A_{430nM} \quad (VII)$$

Onde : D: diluição = 1 , não diluída.

A : Absorbância medida em 430nM