



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

JOSE FRANCISCO TELES DE SANTANA JUNIOR

**ESTUDO DA ELABORAÇÃO DE UMA “CERVEJA” ALE EM MOSTO
DE ALTA DENSIDADE UTILIZANDO MEL DO SEMIÁRIDO BAIANO
COMO ADJUNTO DO MALTE.**

Feira de Santana, BA
2019

JOSE FRANCISCO TELES DE SANTANA JUNIOR

**ESTUDO DA ELABORAÇÃO DE UMA “CERVEJA” ALE EM MOSTO
DE ALTA DENSIDADE UTILIZANDO MEL DO SEMIÁRIDO BAIANO
COMO ADJUNTO DO MALTE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho

Co-orientador: Dr^a. Cassiane da Silva Oliveira Nunes

Feira de Santana, BA
2019

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEMS

S223

Santana Júnior, José Francisco Teles de

Estudo da elaboração de uma "cerveja" ale em mosto de alta densidade utilizando mel do semiárido baiano como adjunto do malte / José Francisco Teles de Santana Júnior. – 2019.

113 f. il.

Orientador: Giovani Brandão Mafra de Carvalho.

Coorientadora: Cassiane da Silva Oliveira Nunes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Feira de Santana, 2019.

1. Cerveja – produção. 2. Mosto de alta densidade. 3. Mel – Semiárido baiano.

I. Carvalho, Giovani Brandão Mafra de, orient. II. Nunes, Cassiane da Silva Oliveira, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 663.4:638.167(814.22)

Luis Ricardo Andrade da Silva - Bibliotecário - CRB-5/1790

BANCA EXAMINADORA

Paula Bacelar Leite

Dr.^a Paula Bacelar Leite

(Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia Baiano)

Gean Claudio de Souza Santana

Dr. Gean Claudio de Souza Santana

(Universidade Estadual de Feira de Santana)



Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho
(Universidade Estadual de Feira de Santana)
Orientador e Presidente da Banca

**Feira de Santana – BA
2019**

À Deus por iluminar meus caminhos, aos meus pais (José Francisco e Conceição), por todo apoio e compreensão, a meu irmão (Thiago), pelo companheirismo e a minha amada (Flávia), pelo carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Um trabalho de mestrado é uma longa viagem, que inclui uma trajetória permeada por inúmeros desafios, incertezas, alegrias e muitos percalços pelo caminho, mas apesar do processo exaustivo, reúne contributos de várias pessoas, indispensáveis para encontrar o melhor rumo em cada momento da caminhada. Percorrer este caminho só foi possível com o apoio de várias pessoas, a quem dedico este trabalho.

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. Por me guiar, iluminar e dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar.

Aos meus pais, pelo apoio, incentivo e amor incondicional. Minha mãe, Conceição, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço. Meu pai, José Francisco, que apesar de todas as dificuldades sempre me fortaleceu.

Ao meu irmão, Thiago, meus avós, tios, tias, primos, primas e demais parentes, que são responsáveis pela formação da minha essência.

A minha amada companheira de todos os momentos, Flávia, por todo apoio e ajuda nas atividades e fins de semana no laboratório, enfim, por tudo que fez por mim.

Ao Prof. Dr. Giovani Brandão pela oportunidade e apoio na elaboração desse trabalho. Muito obrigado pela orientação e confiança. Além de servir como inspiração pessoal e profissional.

A Prof. Dr^a. Cassiane Oliveira por todo conhecimento que me foi passado. Por ser meu espelho de dedicação e empenho na atividade de pesquisa científica.

Meus agradecimentos aos meus amigos Geiza, Kayque, Mashely, Verena, Célia, Nara, Tamires, Hevelynn, Filipe, Rafael, Laís e Jéssica, companheiros de laboratório e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza. Vocês fizeram nosso ambiente de trabalho ser muito mais leve e alegre.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha vida, por me proporcionar o conhecimento, não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

Aos funcionários do Labotec II, Antônio Cardoso, Ednelson, Luiz, Katia, Pablo, Gal, Rita, Neide, entre outros, que sempre me foram solícitos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho e PPGBiotec pela oportunidade de realização do mestrado.

RESUMO

Com um aumento considerável pela procura e desenvolvimento de novos produtos biotecnológicos na área de alimentos, e no caso da cerveja, a presença de produtos diferentes daqueles que seguem a tendência convencional imposta a grande massa de consumidores, utilizou-se a cerveja como alternativa para se desenvolver uma formulação inovadora, com a adição de mel do semiárido baiano, uma matéria-prima amplamente utilizada e comercializada na indústria de alimentos e com características próprias da região supracitada. O objetivo do presente trabalho foi produzir e estudar, uma cerveja utilizando mosto concentrado (*high gravity*) pela adição de mel do semiárido baiano à sua formulação. Os ensaios para produção de cerveja foram feitos tratamentos utilizando um planejamento estatístico por médias, onde utilizou-se concentrações de extrato do mosto na ordem de 16, 18, 20, 22 e 24° P. A mosturação foi realizada pelo processo de rampa de mosturação sendo o mel adicionado na etapa de fervura. Em sequência, foi corrigido o teor de extrato, para posteriormente ser inoculado com leveduras de alta fermentação (*Ale*). A fermentação ocorreu nas temperaturas de 15 e 22° C. As cervejas foram analisadas quanto: as características físico-químicas, crescimento e viabilidade celular, produção de etanol, produtividade volumétrica (Q_p), conversão de substrato em produto (Y_p/s), foi feito o estudo cinético das fermentações e realizou-se um tratamento estatístico dos dados, utilizando o programa SISVAR 5.0. As concentrações (16 e 24 °P), foram levadas a produção em escala piloto e feita a análise sensorial, utilizando testes afetivos e de preferência. Através das análises físico-químicas verificou-se que tanto o mel como o mosto puro malte estavam aptos a serem utilizados na fermentação. Feito o estudo dos parâmetros fermentativos pode-se verificar que a fermentação conduzida a 22°C apresentou melhores resultados, e que a amostra com maior concentração inicial de mosto (24 °P) teve maior produtividade volumétrica em etanol ($Q_p = 0,37 \text{ g/L.h}$) e maior produção de etanol (85,90 g/L). Com o estudo cinético pode-se determinar o tempo de geração da levedura ($T_g = 12,51 \text{ h}$), o valor máximo da velocidade específica de crescimento celular ($0,05538 \text{ h}^{-1}$) que foi obtido nas condições de menor concentração inicial de açúcares (16 °P), velocidade específica de consumo de extrato aparente ($0,74125 \text{ h}^{-1}$) e velocidade específica de formação de produto ($0,37700 \text{ h}^{-1}$), foi obtido na amostra com maior concentração inicial de mosto (24 °P). A cerveja com mosto inicial de 16°P apresentou 57% da preferência dos provadores, enquanto, a cerveja com mosto de 24°P apresentou 43%, em relação ao teste de preferência por comparação pareada. Os provadores da análise sensorial manifestaram sua aceitação média na escala hedônica para as duas cervejas, entre “gostei muito” e “gostei moderadamente” (médias= 7,5 e 7,25), respectivamente, não apresentando diferença significativa entre as amostras. Assim, esse projeto demonstrou que é possível a aplicação desta tecnologia, aumentando a produtividade e obtendo benefícios econômicos e energéticos, além de valorizar uma matéria-prima do semiárido baiano.

PALAVRAS-CHAVE: High Gravity Brewing, Fermentação, Cerveja, Mel.

ABSTRACT

With a considerable increase in the demand and development of new biotech products in the food sector and in the case of beer, the presence of products different from those following the conventional trend imposed by the large mass of consumers, Beer was used as an alternative to develop an innovative formulation, with the addition of honey of the Semiarid Bahia, a raw material widely used and commercialized in the food industry and with characteristics of the region mentioned above. The objective of this work was to produce and study, a beer using concentrated wort (high gravity) by the addition of honey from the Semiarid region of Bahia to its formulation. The tests for beer production were made using a statistical planning by means, where it was used concentrations of wort extract in the order of 16, 18, 20, 22 and 24 °P. The mosturation was performed by the process of the mosturation ramp being the honey added in the boiling stage. Subsequently, the extract content was corrected to be inoculated with high fermentation yeasts (*Ale*). Fermentation occurred at temperatures of 15 and 22 °C. The beers were analyzed as: physicochemical characteristics, cell growth and viability, ethanol production, volumetric yield (Q_p), substrate conversion in product (Y_p/s), the kinetic study of Fermentations and Statistical treatment of the data was performed using the SISVAR 5.0 program. The concentrations (16 and 24 °P) were carried out on a pilot scale and performed the sensory analysis, using affective tests and preferably. Through physicochemical analyses it was found that both honey and pure malt wort were able to be used in fermentation. The study of fermentative parameters can be verified that the fermentation conducted at 22 °C presented better results, and that the sample with the highest initial concentration of wort (24 °P) had higher volumetric productivity in ethanol ($Q_p = 0.37 \text{ g/L.h}$) and higher Ethanol production (85.90 g/L). With the kinetic study, it is possible to determine the time of yeast generation ($T_g = 12.51 \text{ h}$), the maximum value of the specific velocity of cell growth (0.05538 h^{-1}) that was obtained under the conditions of lower initial sugar concentration (16 °P), velocity specified of apparent extract consumption (0.74125 h^{-1}) and specific velocity of product formation (0.37700 h^{-1}), was obtained in the sample with the highest initial concentration of wort (24 °P). The beer with initial wort of 16 °P had 57% of the preference of the takers, while the beer with wort of 24 °P had 43%, in relation to the preference test by paired comparison. The audience of sensory analysis manifested their average acceptance in the hedonic scale for the two beers, between "liked very much" and "liked moderately" (averages= 7.5 and 7.25), respectively, with no significant difference between the samples. Thus, this project demonstrated that it is possible to apply this technology, increasing productivity and obtaining economic and energetic benefits, besides valuing a raw material of the Semiarid region of Bahia.

KEYWORDS: High Gravity Brewing, Fermentation, Beer, Honey.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Tempo de fermentação dos tipos <i>lager</i> e <i>ale</i> de cervejas (RUSSEL, 1994)	25
Figura 3.2 - Flor de lúpulo (MEGA <i>et al.</i>)	30
Figura 4.1 - Preparação dos principais tipos de cerveja (RUSSEL, 1994)	38
Figura 4.2 - Conversão estequiométrica da glicose a etanol e dióxido de carbono (Equação de GayLussac) (ILHA <i>et al.</i> , 2008)	42
Figura 4.4 - Curvas de ajuste dos resultados de uma experiência idealizada de fermentação, onde X, P e S são as concentrações de microrganismo, do produto e do substrato residual no meio, respectivamente (HISS, 2001)	45
Figura 5.1 - (A) Grãos de malte de cevada; (B) Grãos de malte de cevada moídos	47
Figura 5.2 - (A) Sistema de painéis utilizadas para a brassagem do mosto cervejeiro; (B) Grãos de malte imersos em água na panela de mostura	47
Figura 5.3 - Tempos e temperaturas utilizados na mosturação pelo processo de infusão (Adaptado de CARVALHO e ZAMBIAZI, 2011)	48
Figura 5.4 - Mosto sendo transferido para a panela de filtração por ação da gravidade e as cascas de malte atuando como agente filtrante	49
Figura 5.5 - Mosto sendo fervido e adicionado o lúpulo em extrato	50
Figura 5.6 - Sistemas de fermentação em escala laboratorial	50
Figura 5.7 - Ficha utilizada nos testes de preferência com escala hedônica estruturada de 9 pontos	58
Figura 5.8 - Ficha utilizada nos testes de aceitação do tipo comparação pareada	58
Figura 6.1 - Perfis de concentração células em suspensão (Cél/mL) (○) e de viabilidade celular (%) (■) nos seguintes mostos: (A) 16 °P, (B) 18 °P, (C) 20 °P, (D) 22 °P e (E) 24 °P, em função do tempo (h), numa fermentação conduzida a 15 °C	66
Figura 6.2 - Perfis de concentração células em suspensão (Cél/mL) (○) e de viabilidade celular (%) (■) nos seguintes mostos: (A) 16 °P, (B) 18 °P, (C) 20 °P, (D) 22 °P e (E) 24 °P, em função do tempo (h), numa fermentação conduzida a 15 °C	68
Figura 6.3 - Perfis de concentração de substrato (g/L) (■) e de concentração de etanol (g/L) (■), em função do tempo, na fermentação conduzida a 15 °C	70
Figura 6.4 - Perfis de concentração de substrato (g/L) (■) e de concentração de etanol (g/L) (■), em função do tempo, na fermentação conduzida a 15 °C	71
Figura 6.5 - Resultado do teste de comparação pareada entre as amostras	81
Figura 6.6 - Resultado do teste em escala hedônica para a amostra A (16 °P)	82

Figura 6.7 - Resultado do teste em escala hedônica para a amostra E (24 °P) 83

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Composição da água dos principais centros cervejeiros (ppm) (HOUGH, 1985)	30
Tabela 3.2 - Composição química em percentagem (%) do lúpulo em flor (TSCHOPE, 2001)	32
Tabela 3.3 - Composição básica do mel (PEREIRA <i>et al.</i> , 2003)	37
Tabela 6.1 - Características físico-químicas do mel e recomendação da legislação brasileira	59
Tabela 6.2 - Características físico-química do mosto cervejeiro puro malte	63
Tabela 6.3 - Valores dos parâmetros fermentativos numa fermentação conduzida a 15 °C. Etanol (%v/v), Etanol (g/L), Produtividade Volumétrica – Qp (g/L.h), Fator de Conversão de Substrato em Produto – Yp/s (g/g) e Grau Aparente de Fermentação – GAF (%). Amostra A (16 °P), amostra B (18 °P), amostra C (20 °P), amostra D (22 °P) e amostra E (24 °P)	73
Tabela 6.4 - Valores dos parâmetros fermentativos numa fermentação conduzida a 22 °C. Etanol (%v/v), Etanol (g/L), Produtividade Volumétrica – Qp (g/L.h), Fator de Conversão de Substrato em Produto – Yp/s (g/g) e Grau Aparente de Fermentação – GAF (%). Amostra 1 (16 °P), amostra 2 (18 °P), amostra 3 (20 °P), amostra 4 (22 °P) e amostra 5 (24 °P)	74
Tabela 6.5 - Tratamento estatístico dos valores dos parâmetros fermentativos na fermentação conduzida a 15 °C e 22 °C. Amostra A (16 °P), amostra B (18 °P), amostra C (20 °P), amostra D (22 °P) e amostra E (24 °P)	75
Tabela 6.6 - Velocidades específicas máximas de crescimento celular para ensaios de fermentação conduzidas nas temperaturas de 15 °C e 22 °C	76
Tabela 6.7 - Velocidades específicas máximas de consumo de extrato aparente para ensaios de fermentação conduzidas nas temperaturas de 15 °C e 22 °C	77
Tabela 6.8 - Velocidades específicas máximas de formação de produto para ensaios de fermentação conduzidas nas temperaturas de 15 °C e 22 °C	78
Tabela 6.9 - Caracterização Físico-Química das amostras de cerveja a partir do mosto concentrado com mel depois de fermentadas	79
Tabela 6.10 - Resumo da ANOVA dos resultados do teste de aceitação em escala hedônica para as amostras de cerveja	82

LISTA DE SIGLAS

a.C. - Antes de Cristo

S. cerevisiae - *Saccharomyces cerevisiae*

HK: hexoquinase

PGI: fosfoglicoisomerase

PFK: fosfofrutoquinase

FBPA: frutose bifosfato aldolase

TPI: triose fosfato isomerase

GAPDH: gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

PGK: fosfoglicerato quinase

PGM: fosfogliceromutase

ENO: enolase

PYK: piruvato quinase

PDC: piruvato descarboxilase

ADH: álcool desidrogenase.

°Bx - Grau brix

°P - Grau plato

h - horas

GAF - Grau Aparente de Fermentação (%)

Qp - Produtividade Volumétrica em Etanol (g/L.h)

Yp/s – Fator de conversão de Substrato em Produto (g/g)

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. 1.OBJETIVO GERAL.....	19
3. 1.1.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. 2. REVISÃO DA LITERATURA	20
5. 2.1. HISTÓRIA DA CERVEJA	20
6. 2.2. DEFINIÇÃO DE CERVEJA	22
7. 2.2.1. QUANTO AO EXTRATO PRIMITIVO:.....	23
8. 2.2.2. QUANTO À COR:	23
9. 2.2.3. QUANTO AO TEOR ALCOÓLICO:	24
10. 2.2.4. QUANTO À PROPORÇÃO DE MALTE DE CEVADA:.....	24
11. 2.2.5. QUANTO À FERMENTAÇÃO:	24
12. 3.1.MATÉRIAS-PRIMAS	25
13. 3.1.1.MALTE DE CEVADA	26
14. 3.1.2.ÁGUA CERVEJEIRA	28
15. 3.1.3.LÚPULO.....	30
16. 3.1.4.LEVEDURAS	33
17. 3.2.CERVEJA PRODUZIDA COM MOSTO DE ALTA DENSIDADE	34
18. 3.3.MEL COMO ADJUNTO DE MALTE.....	36
19. 4.PROCESSO TRADICIONAL DE PRODUÇÃO DE CERVEJA.....	38
20. 4.1.MOAGEM DO MALTE E MOSTURAÇÃO	39
21. 4.2.FILTRAÇÃO, FERVURA E TRATAMENTO DO MOSTO.....	40
22. 4.3.FERMENTAÇÃO.....	41
23. 4.3.1.FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA	41
24. 4.3.2.CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO.....	44
25. 4.4.MATURAÇÃO E CLARIFICAÇÃO.....	45
26. 5.MATERIAL E MÉTODOS	46
27. 5.1.AS MATÉRIAS PRIMAS.....	46

28. 5.1.1.MEL.....	46
29. 5.1.2.MOSTO CERVEJEIRO	46
30. 5.2.PREPARO E TRATAMENTO DO MOSTO	46
31. 5.3.AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO MEL, MOSTO PURO MALTE E CERVEJAS.....	51
32. 5.3.1.UMIDADE	51
33. 5.3.2.CINZAS	52
34. 5.3.3.ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL	52
35. 5.3.4.SÓLIDOS SOLÚVEIS (°BRIX)	52
36. 5.3.5.TESTE DE LUGOL	52
37. 5.3.6.PROTEÍNA TOTAL.....	53
38. 5.3.7.AÇÚCARES REDUTORES.....	53
39. 5.3.8.AÇÚCARES TOTAIS.....	53
40. 5.3.9.DETERMINAÇÃO DE PH.....	53
41. 5.3.10.COR.....	54
42. 5.4.PROPAGAÇÃO DAS LEVEDURAS.....	54
43. 5.5.ACOMPANHAMENTO DAS FERMENTAÇÕES	54
44. 5.5.1.CONCENTRAÇÃO CELULAR E VIABILIDADE CELULAR	54
45. 5.5.2.TEOR DE ETANOL E EXTRATO APARENTE.....	55
46. 5.6.DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FERMENTATIVOS	55
47. 5.7.ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS FERMENTATIVOS	56
48. 5.7.1.ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS DA CARACTERIZAÇÃO FÍSICO- QUÍMICA DAS AMOSTRAS DE CERVEJA	56
49. 5.8.PRODUÇÃO DA CERVEJA EM ESCALA PILOTO	57
50. 5.9.ANÁLISE SENSORIAL	57
51. 6.RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
52. 6.1.CARACTERIZAÇÃO DO MEL.....	59
53. 6.2.CARACTERIZAÇÃO DO MOSTO CERVEJEIRO	62

54. 6.3.ACOMPANHAMENTO ANALÍTICO DA FERMENTAÇÃO EM ESCALA LABORATORIAL	64
55. 6.3.1.CRESCIMENTO E VIABILIDADE CELULAR	65
56. 6.3.2.CONSUMO DE SUBSTRATO X PRODUÇÃO DE ETANOL.....	69
57. 6.3.3.PARÂMETROS FERMENTATIVOS EM ESCALA LABORATORIAL A 15°C.....	72
58. 6.3.4.PARÂMETROS FERMENTATIVOS EM ESCALA LABORATORIAL A 22°C.....	73
59. 6.4.TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS COMPARANDO AS DUAS TEMPERATURAS DE FERMENTAÇÃO UTILIZADA.....	74
60. 6.5.CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO	76
61. 6.5.1.VELOCIDADES ESPECÍFICAS MÁXIMAS DE CRESCIMENTO CELULAR.	76
62. 6.5.2.VELOCIDADES ESPECÍFICAS MÁXIMAS DE CONSUMO DE EXTRATO APARENTE.	77
63. 6.5.3.VELOCIDADES ESPECÍFICAS MÁXIMAS DE FORMAÇÃO DE PRODUTO.	77
64. 6.6.CARACTERIZAÇÃO DAS CERVEJAS.....	78
65. 6.7.ANÁLISE SENSORIAL DAS CERVEJAS.....	80
66. 7.CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
67. 8.SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	85
68. 9.REFERÊNCIAS	86
69. 10.APÊNDICES	98
70. APÊNDICE 1. - CURVAS DO ESTUDO CINÉTICO DAS AMOSTRAS.	98
71. APÊNDICE 1.1 - CURVAS DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE CRESCIMENTO CELULAR A 15°C.	98
72. APÊNDICE 1.2 - CURVAS DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE CRESCIMENTO CELULAR A 22°C.....	98
73. APÊNDICE 1.3 - CURVAS DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE CONSUMO DE SUBSTRATO A 15°C.....	99
74. APÊNDICE 1.4 - CURVAS DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE CONSUMO DE SUBSTRATO A 22°C.....	99
75. APÊNDICE 1.5 - CURVAS DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE PRODUÇÃO DE ETANOL A 15°C.	100

76. APÊNDICE 1.6 - CURVAS DA VELOCIDADE ESPECÍFICA DE PRODUÇÃO DE ETANOL A 22°C.	100
77. APÊNDICE 2 – TESTE DE COMPARAÇÃO PAREADA-PREFERÊNCIA (BICAUDAL).	101
78. APÊNDICE 3 – RESULTADOS DO ACOMPANHAMENTO DO CRESCIMENTO CELULAR.....	101

INTRODUÇÃO

No Brasil, o setor cervejeiro gera cerca de 2,2 milhões de empregos e sua receita corresponde a 1,6% do Produto Interno Bruto (PIB), contribuindo com R\$ 23 bilhões de impostos ao ano. De acordo com a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (CERVBRASIL, 2019), o País tem cerca de 117 mil hectares plantados com cereais destinados à produção da bebida. Em 2016, o Brasil fabricou 14,1 bilhões de litros de cerveja, ficando atrás apenas da China e dos EUA e se tornando o terceiro maior produtor mundial. Estão registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (Mapa) 610 cervejarias, que fabricam 7.540 produtos, divididos entre cervejas e chopes. Esse número cresceu cerca de seis vezes desde 2007, impulsionado, principalmente, pela abertura de empresas de pequeno porte, microcervejarias e *brewpubs* (bares que produzem sua própria cerveja) (CERVBRASIL, 2019).

Na produção de cerveja estima-se que há mais de 20 mil diferentes tipos de formulações. Essa grande variedade é obtida a partir de mudanças na fabricação da bebida, como por exemplo, o tempo e temperatura nas etapas de mosturação, fermentação, maturação e o uso de ingredientes diferenciados como trigo, milho, centeio, arroz, mel, mandioca, frutas, etc (SOARES, 2011).

Como resultado da crescente competitividade do mercado, tanto para a redução de custos como para a introdução de novos produtos, os cervejeiros estão constantemente buscando inovações tecnológicas para seus processos, com isso, observa-se uma crescente evolução por conhecimentos científicos nesse setor. Uma das inovações que está sendo cada vez mais utilizada pelas indústrias cervejeiras é a elaboração de cervejas de altas densidades. Segundo Russel e Stewart (1995), com este procedimento é possível aumentar a capacidade de produção através de um eficiente uso das instalações, reduzindo os custos de energia, mão de obra, limpeza e efluentes.

Apesar do processo cervejeiro ser conhecido há milhares de anos, existe uma necessidade de desenvolver novas tecnologias para aumentar a produtividade e diminuir os custos de investimentos. Então, pesquisadores e especialistas cervejeiros estão em busca de tecnologias e procedimentos que aumentem a produtividade e a economia das matérias-primas e diminuam a energia na produção da cerveja.

No Brasil, duas tendências têm se destacado: a obtenção de cervejas a partir de mostos concentrados (*High Gravity Brewing*) e a elaboração de cervejas utilizando adjuntos especiais, os quais podem aromatizar ou não as mesmas (CARVALHO, 2009).

Segundo Dragone et al. (2007), algumas cervejarias vêm optando pelo aumento do extrato inicial da fermentação, processo conhecido como de alta concentração, a fim de aumentar a produtividade e diminuir os investimentos. Nesse processo, a cerveja é produzida e depois diluída com água à concentração alcoólica adequada para venda, gerando economia de energia e benefícios econômicos e ao meio ambiente. Por se tratar de uma tecnologia nova, as vantagens e desvantagens dela ainda são bastante discutidas.

As principais vantagens da produção de cervejas com alta densidade são: uma crescente capacidade de produção de cervejas através de um uso mais eficiente das instalações existentes da planta, redução de custos de energia, custos de mão de obra, limpeza e custos de efluentes, incremento da estabilidade física e das propriedades organolépticas, além de uma maior produção de álcool por unidade de extrato fermentável (CARVALHO, 2009).

A elaboração de cervejas utilizando adjuntos especiais tem sido uma nova tendência para suprir às exigências do mercado, esse ingrediente a mais no processo cervejeiro vem se tornando uma solução para o barateamento do processo devido a substituição de parte do malte, fornecendo atributos sensoriais característicos no produto finalizado. E um dos novos adjuntos que pode ser utilizado é o mel produzido no semiárido baiano.

Esse mel em especial, é produzido em uma região do nordeste brasileiro de grande riqueza de fauna e flora, o que pode trazer características únicas ao produto final. A utilização dessa matéria prima nesse processo é de grande importância também para os produtores, tendo em vista que é uma utilização a mais para o seu produto.

O mel é um ingrediente versátil e altamente fermentescível, com sabor e aroma característicos, promovendo um sabor diferenciado à bebida ou alimento (CRANE, 1987). O mel é responsável por fornecer notas florais de aroma à cerveja, por meio dos pólenes e néctares utilizados pelas abelhas na sua produção (SMITH, 2009).

Nesse sentido, além de contribuir para o desenvolvimento de um processo cervejeiro inovador e de grande potencial, o presente trabalho de mestrado busca elaborar uma cerveja *ale* com mosto concentrado utilizando como adjunto o mel do semiárido baiano a fim de

desenvolver um processo cervejeiro economicamente viável, contribuir na diversificação da linha de produtos, assim como valorizar a matéria-prima.

1. OBJETIVO GERAL

Produzir cerveja com mosto de alta densidade (*High Gravity*) utilizando o mel do semiárido baiano como adjunto do malte.

1.1. Objetivos específicos

1. Avaliar as características físico-químicas do mel e do mosto cervejeiro tradicional;
2. Avaliar duas temperaturas diferentes de fermentação (15 e 22°C);
3. Analisar o crescimento e viabilidade celular no meio de fermentação;
4. Realizar acompanhamento analítico (produção de etanol, consumo de substrato, produtividade volumétrica e grau aparente de fermentação);
5. Acompanhar as fermentações através da análise cinética: velocidades específicas de crescimento celular (μ_x), de consumo de substrato (μ_s) e formação de produto (μ_p).
6. Avaliar as características físico-químicas das cervejas;
7. Produzir as melhores condições de fermentação em escala piloto;
8. Análise sensorial das cervejas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. História da cerveja

A produção e o consumo de bebidas alcóolicas são uma das atividades mais antigas desenvolvidas pelo homem. A origem das primeiras bebidas alcóolicas é incerta, mas supõe-se que entre as bebidas fermentadas a cerveja seja uma das mais antigas. A cerveja é uma bebida natural obtida pela fermentação alcoólica de um extrato aquoso de cevada maltada, preparada a partir de lúpulo, água, levedura e malte de cevada, com teor alcoólico entre 3 e 8% (v/v), tradicionalmente essas são as matérias-primas da cerveja, embora em muitos processos utilizam-se também adjuntos (CARBONELL E SENDRA, 2001; ALMEIDA E SILVA, 2005; BORTOLI *et al.*, 2013).

A cerveja teve sua origem na região da Mesopotâmia, local onde a cevada crescia em estado selvagem, sendo um produto valorizado tanto pelas suas propriedades físicas e químicas, quanto pela sua utilização nas funções medicinais, cosméticas e culinárias. Existem evidências da fabricação de cerveja feita de cevada maltada na Babilônia no ano de 6.000 a.C. No Egito, a cerveja era utilizada nos ritos religiosos, ocupando assim um lugar importante, sendo uma bebida de grande consumo nacional (ADEMOLA *et al.*, 2011).

A primeira cerveja de que se tem notícia foi fabricada pelos sumérios, um povo que vivia na Mesopotâmia, Oriente Médio. Além dessa civilização, também foram exímios cervejeiros os assírios e babilônios. Os sumérios fabricavam uma massa consistente com grãos moídos que, após o cozimento, era consumida como pão. Esta massa, submetida à ação do tempo, umedecia e fermentava, tornando-se uma espécie de “pão líquido”, ou seja, um tipo de bebida alcoólica. Esta bebida guarda uma semelhança, ainda que distante, com a atual cerveja (TSCHOP, 2001).

No Egito, a cerveja era uma bebida nacional de grande consumo, ocupando um lugar importante nos ritos religiosos, sendo distribuída ao povo. Documentos históricos comprovam que os egípcios já fabricavam alguns tipos de cerveja como a “Cerveja dos Notáveis” e a “Cerveja de Tebas” (TSCHOP, 2001). Por intermédio desta civilização que a cerveja ficou conhecida por outros povos orientais, chegando ao conhecimento da Europa e então ao resto do mundo (SINDICERV, 2000).

Na antiguidade, a cerveja era obtida como uma atividade doméstica ou produzida em pequena escala. As cervejas eram fabricadas por padeiros devido à natureza da matéria-prima utilizada: grãos de cereais e leveduras. A cevada era deixada de molho até germinar, depois moída grosseiramente e moldada em bolos, onde a levedura era adicionada. Os bolos eram parcialmente assados e colocados em jarra com água para fermentar. No Egito essa cerveja rústica ainda é fabricada com o nome de Bouza. Na idade média, houve um avanço da produção cervejeira com a introdução de uma nova matéria-prima: o lúpulo. Nesta época, ainda eram utilizados vários ingredientes na fabricação da cerveja. Então, no ano de 1516, foi aprovada na Alemanha a lei *Reinheitsgebot*: a cerveja deveria ser produzida somente com água, cevada e lúpulo (HOUGH, 1990, VENTURINI, 2005).

Os imigrantes, colonos primitivos ingleses e holandeses, trouxeram a tecnologia doméstica de fabricação da cerveja utilizando milho e lúpulo para a América (AQUARONE *et al.*, 1983; MATAIX, 2004). Na época do império, no início do século XIX, a cerveja foi trazida para o Brasil por D. João VI, importada dos países europeus (CEREDA, 2001; ALMEIDA e SILVA, 2005).

De acordo com Cruz (2007), a elaboração de cerveja, feita durante muitos séculos de um modo empírico, alterou-se decisivamente do século XIX, quando métodos e conceitos científicos foram adotados pelos fabricantes da época. Graças a eles, foi possível começar a obter cerveja com maior duração, mais reprodutível e de qualidade mais consistente. Como resultado destes avanços, as unidades produtoras foram-se tornando cada vez maiores, originando o aparecimento da verdadeira indústria cervejeira. Os grandes avanços verificados se devem aos estudos de L. Pasteur, E. Buchner, E. Hansen, A. Harden e W. J. Young, estes dois últimos já no início do século XX, que permitiu esclarecer muitos dos problemas que dificultavam o progresso da indústria. Até essa época, a cerveja resultava, quase que exclusivamente, da fermentação realizada à temperatura ambiente, por leveduras de alta fermentação (cerveja *ale*). Na Baviera, porém, produzia-se, desde o século XVI, uma cerveja cuja fermentação era realizada por leveduras que fermentavam bem a baixas temperaturas (8 a 10°C) e que era mantida em caves até a fermentação principal terminar (cerveja *lager*). O resfriamento necessário era obtido com blocos de gelo, fáceis de obter nas montanhas, no inverno, mas de difícil conservação no verão. No século XIX este tipo de processo vulgarizou-se, pois a cerveja *lager* obtida conservava-se melhor que a cerveja *ale*.

Nas últimas décadas, a maltagem e a indústria de fabricação de cerveja colocou em prática uma gama de novas invenções técnicas, bioquímicas, microbiológicas e genéticas (LINKO, 1998). No início do processo de industrialização ocorreu a implantação das cervejarias no Brasil. Na cidade do Rio de Janeiro, em 1888, foi fundada a “Manufatura de Cerveja Brahma Villigier e Cia”. Já em São Paulo, em 1891, foi fundada a companhia Antarctica Paulista, em 1982, foi lançada a Kaiser e a Antarctica, em Minas Gerais. No ano de 2000, ocorreu a fusão das empresas Antarctica e Brahma dando origem a AMBEV. Atualmente, a Ambev associou-se com a cervejaria Belga (Interbrew) originando a INBEV, maior grupo cervejeiro do mundo, com a participação de empresas como a Heineken (Holanda), Anheuer-Busch (Estados Unidos da América), Carlsberg (Dinamarca) e SAB-Miller (África do Sul) (LIMA, BIBIANO, 2011).

Nos últimos anos, a evolução do consumo de cervejas apresentou um aumento de 5,45 bilhões de litros consumidos em 1990 para 8,45 bilhões de litros consumidos em 2001 (ALMEIDA e SILVA, 2005). No Brasil, o consumo de cerveja por pessoa é de cerca de 50 litros por ano e o tipo de cerveja mais consumida é a *lager*, com 98%, seguido por Bock, Malzbier, e outros tipos (GRANATO *et al.*, 2010).

2.2. Definição de cerveja

O Decreto nº 6.871 (BRASIL, 2009), de 4 de junho de 2009, artigo 36, define a cerveja como uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo. Podendo o malte de cevada e o lúpulo serem substituídos pelos seus respectivos extratos. Quanto ao malte de cevada, parte do mesmo pode ser substituída por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não poderá ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo. No entanto, se os adjuntos se tratarem de açúcares vegetais diferentes dos provenientes de cereais, a quantidade máxima a ser empregada em relação ao seu extrato primitivo deve ser menor ou igual a dez por cento em peso na cerveja clara, menor ou igual a cinquenta por cento em peso, na cerveja escura, podendo conferir ao produto acabado as características de adoçante e menor ou igual a dez por cento do extrato primitivo na cerveja extra.

De acordo com o Decreto nº 6.871 (BRASIL, 2009), de 4 de junho de 2009, artigo 37, a característica da cor da cerveja deve ser proveniente das substâncias corantes do malte. Para a fermentação, deve se utilizar levedura cervejeira. A cerveja deve ser estabilizada biologicamente por processos físicos apropriados, podendo ser denominada de Chopp, quando não submetida a processo de pasteurização para envase.

De acordo com o Decreto nº 6.871 (BRASIL, 2009), de 4 de junho de 2009, artigo 38, as cervejas podem ser classificadas:

2.2.1. Quanto ao extrato primitivo:

a) Cerveja leve, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a 5% e menor que 10,5% em peso, podendo denominar-se cerveja light a cerveja leve que cumpra também, cumulativamente, os requisitos constantes dos itens 1 e 2, seguintes:

1. Redução de 25% do conteúdo de nutrientes ou do valor energético com relação a uma cerveja similar do mesmo fabricante (mesma marca comercial), ou do valor médio do conteúdo de três cervejas similares conhecidas e que sejam produzidas na região;

2. Valor energético da cerveja pronta para o consumo deve ser no máximo de trinta e cinco quilocalorias por cem mililitros.

b) Cerveja ou cerveja comum, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a 10,5% e menor que 12% em peso;

c) Cerveja extra, definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior ou igual a 12% em peso e menor ou igual a 14% em peso;

d) Cerveja forte: definida como sendo a cerveja cujo extrato primitivo é maior que 14% em peso.

2.2.2. Quanto à cor:

a) Cerveja clara, a que tiver cor correspondente a menos de 20 unidades EBC (European Brewery Convention);

b) Cerveja escura, a que tiver cor correspondente a 20 ou mais unidades EBC (European Brewery Convention);

c) Cerveja colorida, a que, pela ação de corantes naturais, apresentar coloração diferente das definidas no padrão EBC (European Brewery Convention).

2.2.3. Quanto ao teor alcoólico:

a) Cerveja sem álcool, quando seu conteúdo em álcool for menor ou igual a 0,5% em volume, não sendo obrigatória a declaração no rótulo do conteúdo alcoólico;

b) Cerveja com álcool, quando seu conteúdo em álcool for superior a 0,5% em volume, devendo obrigatoriamente constar no rótulo o percentual de álcool em volume.

2.2.4. Quanto à proporção de malte de cevada:

a) Cerveja de puro malte, aquela que possuir 100% de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;

b) Cerveja, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior ou igual 50% cento em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;

c) Cerveja de...l, seguida do nome do vegetal predominante, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior que 20% e menor que 55% em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares.

2.2.5. Quanto à fermentação:

a) de baixa fermentação;

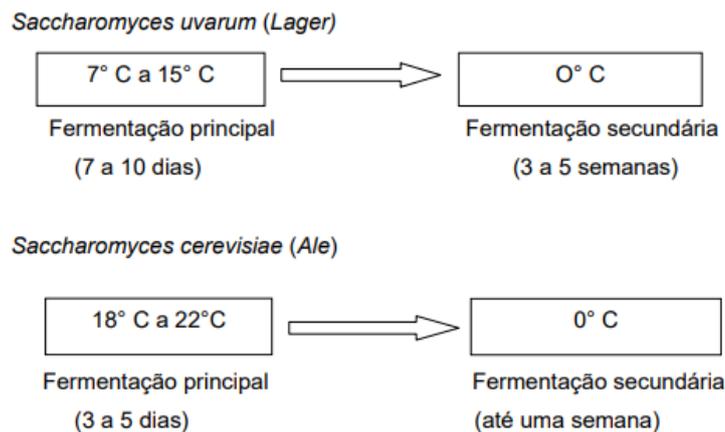
b) de alta fermentação.

A cerveja é classificada em dois grandes grupos: *ale* e *lager*. As cervejas do tipo *Ale* são produzidas a partir da fermentação de superfície ou —alta. Geralmente, são de cor clara, sabor acentuado de lúpulo, pouco ácidas e o teor alcoólico varia de 4% a 8%. Como exemplo dessa

categoria, destacam-se a Porter e a Stout. Já as cervejas denominadas como *lager* são fabricadas por fermentação profunda ou —baixa—. As mesmas possuem cor clara, sabor suave e teor alcoólico entre 4 e 5%. A Pilsen, Munique e a Bock são umas das principais cervejas do tipo *lager* (SIQUEIRA; BOLINI e MACEDO, 2008).

Segundo Oliveira (2011) a diferença entre *lager* e *ale*, baseada em leveduras de fundo ou de superfície, tem se tornado menos usual com a utilização dos fermentadores cilindro-cônicos e das centrífugas. A Figura 3.1 mostra um esquema genérico dos principais processos de produção de cerveja em função da levedura utilizada.

Figura 3.1 - Tempo de fermentação dos tipos *lager* e *ale* de cervejas.



Fonte: Russel (1994).

3.1. MATÉRIAS-PRIMAS

A cerveja é uma solução aquosa complexa, contendo CO₂, etanol, diversos sais inorgânicos e cerca de 800 compostos orgânicos, preparada a partir de malte, água potável, lúpulo, leveduras e, podendo ainda, serem utilizadas outras matérias-primas amiláceas ou açucaradas como adjunto do malte (CARVALHO; BENTO; ALMEIDA e SILVA, 2007).

3.1.1. Malte de cevada

Tecnicamente, o malte é definido como a matéria-prima resultante da germinação de qualquer cereal (milho, trigo, cevada, aveia, entre outros), sob condições controladas de tempo, temperatura e aeração (BOFFIL *et al.*, 2014). O cereal mais utilizado na indústria cervejeira é a cevada. Desde 6000 anos antes de Cristo, a cevada era utilizada na fabricação de cerveja (BARTOLI *et al.*; 2013). A cevada (*Hordeum vulgare*) é uma gramínea cultivada desde a antiguidade, e representa o quinto grão de maior importância econômica no mundo (BELETI *et al.*, 2012).

Segundo Cruz (2007), quando o grão de cevada é submetido a um processo de germinação controlada para desenvolver enzimas e modificar o amido, tornando-o mais macio e solúvel, ele é chamado de malte.

O malte utilizado em cervejaria é obtido usualmente a partir de cevadas de variedades selecionadas especificamente para esta finalidade. A cevada é uma gramínea do gênero *Hordeum*, parente próxima do trigo, e sua cultura é efetuada em climas temperados. No Brasil é produzida em algumas partes do Rio Grande do Sul durante o inverno, e na América do Sul a Argentina é a grande produtora (CARVALHO *et al.*, 2009).

A cevada possui algumas características que a tornam o cereal mais adequado para a produção da cerveja: alto teor de amido, formação e liberação de enzimas que atuam na conversão do amido nos açúcares maltose e glicose durante o processo de malteação, além de conter proteínas que fornecerão os aminoácidos necessários para o crescimento da levedura e substâncias nitrogenadas que exercem um papel importante na formação da espuma (STANLEY *et al.*, 2010). As proteínas da cevada são os principais constituintes capazes de estabilizar a espuma da cerveja e seus níveis na cerveja são uma indicação da qualidade na espuma (FLORIANI, 2009).

Na cevada os grãos na espiga podem estar alinhados em duas ou seis fileiras. Essa diferença não é apenas morfológica. A cevada de seis fileiras, quando comparada com a de duas, apresenta menor teor de amido, maior riqueza proteica ou especificamente, enzimática. Seus grãos são menos uniformes e possuem mais cascas. Assim sendo, a cevada de seis fileiras deve apresentar alguma dificuldade na produção do malte e na moagem dos grãos na cervejaria, menor rendimento na mosturação, mas, por outro lado, facilita a filtração do mosto e aceita

maior proporção de adjunto na formulação da cerveja. Os Estados Unidos usam preferencialmente o malte de cevada de seis fileiras, tanto em cervejaria como nas destilarias de uísque, por exemplo, enquanto que a de duas filas é utilizada na produção de cerveja europeia. No Brasil, a cevada cervejeira produzida nos estados do sul apresenta duas filas (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001).

Segundo Cruz (2007), o grão da cevada passa por um processo de maltagem para produzir enzimas fundamentais ao processo cervejeiro. As enzimas transformam o amido em açúcares que serão utilizados pelas leveduras. Nessa etapa o amido do grão apresenta-se em cadeias menores do que na cevada, tornando-se mais solúvel e menos duro. O processo de maltagem é constituído por três etapas: maceração, germinação e secagem.

a. Maceração: A maceração prepara o grão para a etapa fundamental de germinação. O grão, inicialmente com valores de umidade na ordem de 12 – 14%, é posto em contato com água, durante cerca de dois dias em grandes tanques de fundo cônico, aumentando seu teor até cerca de 42%. Durante a maceração, ar é introduzido e oxigênio é consumido, enquanto que gás carbônico é formado (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001).

b. Germinação: A germinação é um processo biológico que torna as paredes celulares do grão bem quebradiças e facilita a extração do amido. Na sua estrutura existem duas grandes zonas: o embrião e a endosperma. O embrião, fonte da vida, vai ser sede de ordens hormonais que desencadeiam as reações que levam à degradação enzimática parcial do amido armazenado no endosperma, originando açúcares. Estes vão ser a fonte indispensável de energia para o crescimento da pequena raiz (radícula) e do pequeno caule (caulículo) em formação. Durante a germinação são sintetizadas as enzimas hidrolíticas, necessárias à hidrólise parcial dos componentes da cevada (amido, proteínas, paredes celulares), que dão origem aos nutrientes requeridos pela levedura. É também na germinação que as proteínas de reserva do grão são hidrolisadas e utilizadas para sintetizar proteínas para o desenvolvimento do embrião. Os aminoácidos do mosto vão ser também formados parcialmente nesta fase embora a maior quantidade venha se originar na mosturação (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001).

Em relação às enzimas, sabe-se que o grão de cevada possui apenas β -amilase, enzima sacarificante que ataca dextrinas e amido solúvel nas extremidades das cadeias não redutoras, hidrolisa as penúltimas ligações α -1,4 e origina principalmente o dissacarídeo maltose. Na

germinação forma-se α -amilase, enzima com capacidade de liquefazer o amido por ataque das ligações α -1,4 glicosídicas, ao acaso. Mas, forma-se ainda outra enzima, também importante para a mosturação, a dextrinase-limite que é capaz de hidrolisar as ligações α -1,6 glicosídicas, ajudando na degradação do amido. A mobilização das proteínas de reserva do endosperma é feita na germinação graças à atividade de proteinases e peptidases. As proteinases são sintetizadas na camada de aleurona (que envolve o endosperma) e excretadas para o endosperma, onde estão as proteínas de reserva. A β -glucanase atua também nesta fase, degradando as β -glucanas da cevada, que vão conferir viscosidade ao mosto futuro. (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001).

c. Secagem: Quando o tamanho do caulículo atinge um comprimento que se situa em cerca de 75% do grão, a germinação e a desagregação são paradas por secagem controlada, conseguida por uma corrente de ar quente. Segue-se uma fase de aquecimento, até, pelo menos 80°C (em estufa), que vai dar a coloração do malte e o seu gosto peculiar, apropriado a cada tipo de cerveja. A atividade enzimática cessa totalmente embora continue presente quando a umidade do grão baixa para menos de 5 % (CRUZ, 2007).

3.1.2. Água cervejeira

Água é um dos principais fatores a ser levado em consideração na fabricação de cervejas, pois é o meio indispensável a todas as reações químicas e bioquímicas formadoras da cerveja. Além de ser o componente em maior quantidade na cerveja (cerca de 92-95%) (ALMEIDA e SILVA, 2005). A água usada na indústria cervejeira, de captações municipais ou próprias, é aquela adequada à alimentação humana, sendo sua composição química adaptada, nas fábricas, às diversas exigências do processo (com pH na faixa onde as enzimas do malte atuam para a transformação do amido em açúcares fermentáveis; promover a extração das moléculas amargas e aromáticas do lúpulo, bem como uma boa coagulação do material mucilaginoso conhecido como *trub*, durante a fervura), filtrações, fermentação (permitir uma fermentação asséptica) e acondicionamento (desenvolver cor e *flavour* característicos do tipo de cerveja a ser fabricada). Dessa forma, a água usada na cervejaria deve ser insípida e inodora para não interferir nas propriedades organolépticas da cerveja acabada (CRUZ, 2007).

A água cervejeira deve ser livre de contaminação, inócua e dura (com alto teor cálcio e magnésio) que servirão de nutrientes para as leveduras durante o processo fermentativo (FLORIANI, 2009).

Toda água na natureza possui quantidade e qualidade diferente de sais dissolvidos, se a quantidade de sais for alta a água pode ter maior dureza e sabor característico. A dureza é classificada em permanente ou temporária, as águas com altos teores de bicarbonato são águas temporárias, pois precipitam o bicarbonato durante a fervura. Já nas águas permanentes estão presentes cloreto de cálcio, magnésio e sulfeto de cálcio. A água com dureza permanente origina cervejas mais amargas e as com dureza temporária cervejas mais claras e adocicadas (ALMEIDA e SILVA, 2005).

As águas naturais podem ter também compostos gasosos e matérias orgânicas que podem influenciar no sabor e odor. Desta forma, os compostos gasosos, sais dissolvidos e matéria orgânica presentes na água podem interferir nos processos enzimáticos e químicos da fermentação, interferindo diretamente na qualidade da cerveja (ALMEIDA e SILVA, 2005; BARTOLI *et al.*, 2013).

O controle do pH da água é um fator muito importante, o valor ideal para ser utilizado na produção da cerveja está na faixa de 6,5 a 7,0, mas o tipo de cerveja que será produzida que vai determinar o pH ideal (MARTINS, 1991). Nessa faixa há uma maior facilidade da atividade enzimática, com um conseqüente aumento no consumo de maltose e no teor alcoólico. O pH alcalino pode promover a dissolução de grandes quantidades de materiais indesejáveis no processo existentes na casca dos cereais e no malte (OLIVEIRA, 2011). Uma água cervejeira de boa qualidade deve ser limpa, incolor, inodora, insípida, com concentração de cálcio ao redor de 50 mg/L, alcalinidade menor ou igual a 50 mg/L e seguir os padrões de potabilidade (ALMEIDA e SILVA, 2005).

As águas utilizadas nas cervejarias provenientes de tratamento municipais ou poços artesianos devem receber tratamento antes de serem utilizadas. Além de ser necessária uma análise de alguns parâmetros organolépticos, químicos, físicos e microbiológicos: cheiro, sabor, turbidez, coloração, dureza, pH e presença de microrganismos. A partir dessa análise, define-se o tratamento ideal:

- Filtração: os sólidos em suspensão serão removidos;
- Aeração - oxidação: remoção dos odores;
- Cloração: eliminação de microrganismos;

- Desmineralização: remoção dos sais dissolvidos;
- Clarificação: são adicionados produtos químicos para a coagulação ou aglomeração dos materiais em suspensão, que posteriormente serão filtrados ou decantados (OLIVEIRA, 2011).

A Tabela 3.1 mostra a composição mineral da água dos principais centros cervejeiros do mundo (HOUGH, 1985).

Tabela 3.1 - Composição da água dos principais centros cervejeiros (ppm).

Local / Sais	Na ⁺	Mg ⁺²	Ca ⁺²	Cl ⁻	(SO ₄) ²⁻	(HCO ₃) ⁻
Burton-on-Trente	54	24	352	16	820	320
Pilsen	32	8	7	5	6	37
Munique	10	19	80	1	6	333
Londres	24	4	90	18	58	123
Dublin	12	4	119	19	54	319
Dortmund	69	23	260	106	283	549

Fonte: HOUGH, 1985.

Atualmente, a tecnologia de tratamento de águas evoluiu de tal forma que, teoricamente, é possível adequar a composição de qualquer água às características desejadas devido a técnicas como a desionização e osmose reversa. É dito teoricamente, porque o custo de alterar a composição salina da água normalmente é muito alto, motivo pelo qual as cervejarias ainda hoje consideram a qualidade da água disponível como fator determinante da localização de suas fábricas. No Brasil, a maioria das regiões dispõe de águas suaves e adequadas à produção das cervejas *lager*, denominação genérica do tipo de cerveja clara e suave que é produzida no País (CARVALHO et al., 2009).

3.1.3. Lúpulo

O lúpulo é uma planta de origem europeia que pertence à família das *Cannabaceae*, classificada como *Humulus lupulus*, seu cultivo é difícil, sendo típica de regiões frias. No Brasil,

é produzido principalmente no Rio Grande do Sul. É uma planta dióica, isto é, produz flores femininas e masculinas em plantas diferentes (MARTINS, 2011).

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira pertencente à família das moráceas e originária de zonas temperadas. (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001). Para a indústria cervejeira somente interessam as flores femininas não fecundadas, que contêm lupulina, material resinoso, de sabor amargo, onde predominam resinas, antocianinas, taninos e α -ácidos (humulonas) (OETTERER, 2006).

Considerando que os lipídeos, as proteínas e a celulose do lúpulo são insolúveis no mosto, bem como os açúcares e os aminoácidos que se encontram em pequena proporção embora solúveis; considerando-se ainda, a pequena dosagem de lúpulos (cerca de 150 a 450 g/hL), tais substâncias não contribuem, para o processo cervejeiro. De importância, portanto, são os óleos essenciais, as resinas amargas, os polifenóis e as substâncias minerais, que proporcionam duas qualidades sensoriais importantes à cerveja: o aroma e o sabor amargo (TSCHOP, 2001).

A Figura 3.2 apresenta a flor de lúpulo.

Figura 3.2 - Flor de lúpulo.



Fonte: Mega *et al.*, (2011)

As flores femininas são agrupadas em cachos ou umbelas que possuem uma vértebra com várias dobras, local onde as bractéolas e brácteas se fixam e alojam os grânulos de lupulina, substância de interesse cervejeiro, responsável pelo aroma e sabor amargo característicos da cerveja (ALMEIDA e SILVA, 2005; MEGA *et al.*, 2011;).

O lúpulo começa a ser adicionado na cerveja a fim de corrigir diferenças observadas no sabor (CEREDA, 1983). Pode ser comercializado na forma de pó, pellets, flor seca ou extrato

(com compostos aromáticos e de amargor). Existem lúpulos com mais características de amargor e outros com mais características de aroma. O cervejeiro deve fazer uma combinação dos diferentes tipos de lúpulo, adicionando o lúpulo de amargor quando o mosto estiver quase pronto e o lúpulo aromatizante quando o mosto estiver pronto (FLORIANI, 2009; BARTOLI *et al.*, 2013). A Tabela 3.2 mostra os componentes mais importantes do lúpulo em flor.

Tabela 3.2 - Composição química em percentagem (%) do lúpulo em flor.

Características	Percentagem (%)
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

Fonte: Tschope (2001).

As resinas amargas, os polifenóis, os óleos essenciais e os sais minerais são as substâncias fundamentais no processo cervejeiro. Os polifenóis são ricos em substâncias tânicas que protegem a cerveja contra alguns microrganismos. Os óleos essenciais, apesar de serem voláteis, concedem ao mosto e a cerveja um aroma típico do lúpulo (TSCHOPE, 2001).

As resinas amargas são constituídas por ácidos β e α , também chamadas de lupulona e humulonas, que possuem atividade bacteriostática. Os ácidos β são menos solúveis e permanecem inalterados durante a fervura do mosto, portanto contribuem pouco com o amargor da cerveja. As moléculas dos ácidos α , durante a fervura do mosto, são isomerizadas a ácidos iso- α que são mais estáveis, solúveis e possuem propriedades tensoativas, estabilizando, assim, a espuma da cerveja. Os ácidos iso- α são a fonte principal de amargor da cerveja (KEUKELEIRE, 2000; FLORIANI, 2009).

3.1.4. Leveduras

As leveduras são microrganismos eucarióticos e unicelulares que se reproduzem assexuadamente, por gemulação ou brotamento. As duas espécies de leveduras mais utilizadas no processo cervejeiro são a *S. cerevisiae* e a *S. uvarum* (MARTINS, 1991). A *S. cerevisiae* é uma levedura ascomicética e gemulante típica, suas células são elípticas medindo de 6 a 8 µm de comprimento por 5 µm de largura, capaz de metabolizar eficientemente os constituintes do mosto em dois metabólitos primários, dióxido de carbono e etanol. O aroma e o sabor de uma cerveja são determinados pelo tipo de levedura utilizada (ALMEIDA e SILVA, 2005; CARVALHO, 2006).

As leveduras utilizadas para a fermentação em cervejaria são espécies do gênero *Saccharomyces*. Elas consomem os açúcares do mosto fornecidos pelo malte e pelos adjuntos, transformando-os em álcool e CO₂. Embora tradicionalmente a indústria cervejeira classifique a espécie de levedura *Saccharomyces cerevisiae* como levedura do tipo *Ale* e as espécies *Saccharomyces carlsbergensis* ou *Saccharomyces uvarum*, como leveduras do tipo *Lager*, cientificamente essas espécies são classificadas como *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, leveduras tipo *Ale* são cepas específicas de *Saccharomyces cerevisiae* responsáveis pela chamada *top fermentation*, uma vez que ficam na superfície do mosto fermentado. Já as do tipo *Lager*, que também são cepas específicas de *Saccharomyces cerevisiae*, realizam a *bottom fermentation*, depositando-se no fundo da dorna de fermentação (OETTERER, 2006).

Uma levedura cervejeira para produzir uma cerveja de qualidade deve apresentar as seguintes propriedades: ser estável durante vários ciclos de fermentações contínuos, ter uma velocidade rápida de fermentação, sem crescimento celular excessivo, manter um meio de fermentação livre de altas quantidades de metabólitos indesejáveis, converter de forma eficiente os açúcares do mosto em etanol, ser facilmente removida por centrifugação ou floculação do meio de fermentação, tolerar o estresse das altas concentrações de etanol e pressões osmóticas dos componentes do mosto, ser viável e poder ser re-inoculada no mosto (DOWHANICK, 2002, ABREU, 2008).

O desempenho dessas leveduras é influenciado por alguns fatores: tolerância das células das leveduras ao estresse, vitalidade, viabilidade e concentração celular do inóculo durante a fermentação, tipo da cepa de levedura utilizada, concentrações de açúcares, nitrogênio

assimilável e disponibilidade de íons metálicos no mosto, densidade do mosto, pH e temperatura (PEREIRA *et al.*, 2010).

As leveduras são classificadas em *S. cerevisiae* tipo *ale* e *S. cerevisiae* tipo *lager*, de acordo com suas diferenças bioquímicas. As cepas do tipo *lager* são conhecidas como de baixa fermentação, pois são produzidas entre 7 – 15 °C, durante 7 a 10 dias e no final da fermentação floculam na base do fermentador, possuindo um aroma e sabor mais suave e leve. Já as cepas tipo *ale* são conhecidas como de alta fermentação, pois são produzidas entre 18 e 22 °C durante 3 a 5 dias e, no final da fermentação, formam na superfície do fermentador uma película flutuante e espessa de biomassa (ARAÚJO, 2003; CARVALHO, 2006; HARRISSON, 2009).

3.2. CERVEJA PRODUZIDA COM MOSTO DE ALTA DENSIDADE

Na fabricação de cervejas tradicionais, os mostos utilizados possuem 11 a 12% de sólidos solúveis, e são fermentados para produzir de 4 a 5% (v/v) de etanol. Na produção de cerveja estão sendo aplicadas novas técnicas com mostos de alta densidade. Nesse processo os mostos são fermentados com concentrações de sólidos solúveis de 16 a 18%, resultando em um produto com maior teor de etanol. Após a fermentação, o produto é diluído para obter a cerveja com o teor de álcool desejado (BLIEK, 2007; DRAGONE, 2007).

Com a utilização desse procedimento é possível obter uma maior produção de álcool por unidade de extrato fermentescível, reduzir os custos de energia, limpeza, tratamento de efluentes, mão de obra e aumentar a capacidade de produção da cerveja, sem a necessidade de novos investimentos (STEWART, RUSSEL, 2009). A qualidade do produto final precisa ser mantida quando são utilizados processos diferentes e modernos na fabricação da cerveja (SILVA, 2008).

O uso de mostos com concentrações de açúcares elevadas é economicamente satisfatório, mas tem algumas limitações como: fermentações mais lentas e incompletas, elevado teor de etanol, diminuição dos nutrientes do mosto no final da fermentação e a incapacidade da levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, de fermentar eficientemente os açúcares do meio concentrado (PEREIRA *et al.*, 2010). A levedura, *S. cerevisiae*, é capaz de fermentar os açúcares que estão no mosto, que são a frutose, a glicose e a sacarose.

Com o aumento da concentração inicial dos açúcares no mosto, a velocidade de fermentação aumenta, mas as leveduras são submetidas a efeitos de estresse, devido à alta pressão osmótica e ao aumento dos níveis de etanol, resultando na inibição do seu crescimento, viabilidade celular e desempenho fermentativo da levedura e conseqüentemente fermentações mais lentas. Portanto, o sucesso dessas fermentações depende da capacidade da levedura suportar o aumento da pressão osmótica e da concentração de etanol (THOMAS, 1994).

Muitos fatores podem interferir na fermentação do mosto de alta concentração utilizado na produção de cervejas. Dentre estes fatores estão: a concentração celular e a viabilidade celular, a concentração do mosto, a temperatura e a suplementação nutricional. Quanto maior for a concentração e a viabilidade celular, melhor será o desempenho do processo de produção da cerveja. Normalmente são utilizadas concentrações de células viáveis de 10^6 a 10^8 células/mL para produção de cerveja (CARVALHO, 2011).

Dragone *et al.* (2003), ao realizarem uma fermentação em mosto de alta concentração em escala piloto, observaram um aumento na velocidade da fermentação quando a temperatura foi aumentada de 10 para 15 ° C. O aumento da temperatura provoca a diminuição da viabilidade celular devido ao aumento das taxas de produção e acúmulo de etanol nas células de leveduras e no meio.

A temperatura é um dos fatores que afetam as reações bioquímicas e a ecologia da levedura, influenciando no crescimento, metabolismo, viabilidade celular e capacidade fermentativa da levedura (SOUZA, 2009). O aumento da temperatura eleva a velocidade da fermentação, mas permite a contaminação bacteriana, além de tornar a levedura mais sensível a toxicidade do álcool, dando origem a metabólitos secundários como glicerol (NAVES *et al.*, 2010). Sá-Correia e Van Uden (1983) relataram que a faixa de melhor resistência das cepas de leveduras *S. cerevisiae* é 13 a 27 °C e 11% (v/v) de etanol. O controle da temperatura é de extrema importância para maximizar a produção de etanol e prever a inativação irreversível das células de leveduras.

Essas desvantagens na fabricação da cerveja de alta densidade podem ser superadas utilizando leveduras que tolerem condições de estresse e meios suplementados com nutrientes essenciais para a fermentação (BLIEK, 2007). A adição de lipídios, principalmente ergosterol e ácido graxo insaturado otimizam o crescimento e o metabolismo das leveduras (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

3.3. MEL COMO ADJUNTO DE MALTE

No processo de produção de cerveja os adjuntos são especialmente utilizados por questões econômicas, pois, apresentam menor custo na produção de extrato. Além disso, melhoram a qualidade sensorial e físico-química da cerveja acabada. Podem ser considerados como diluidores de todos os componentes do mosto cervejeiro, exceto os açúcares. De fato, reduzem o teor de nitrogênio solúvel, ou melhor, proteína solúvel do mosto, diminuindo a ocorrência de infecção láctea na cerveja, melhorando a sua estabilidade coloidal e, conseqüentemente, aumentando a vida de prateleira do produto. As cervejas que utilizam adjunto em sua composição são mais refrescantes e leves, apresentam normalmente maior brilho, cor mais clara e saciam menos (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001).

O mel, dentre os produtos fornecidos pelas abelhas, é sem dúvida o mais conhecido e difundido. Atribuem-se várias propriedades medicinais ao mel, além de sua qualidade como alimento. Apesar de o homem fazer uso do mel para fins terapêuticos desde tempos remotos, sua utilização como um alimento, de características especiais, deveria ser o principal atrativo para o seu consumo (EMBRAPA, 2003).

Devido a uma flora bastante diversificada, uma extensão territorial invejável e uma variabilidade climática marcante, o Brasil tem um grande potencial apícola, possibilitando produzir mel o ano todo, o que o diferencia dos demais países que, normalmente, colhem mel uma vez por ano (MARCHINI, 2001).

Tabela 3.3 - Composição básica do mel.

Componentes	Média	Variação
Água (%)	17,2	13,4 - 22,9
Frutose (%)	38,19	27,25 - 44,26
Glicose (%)	31,28	22,03 - 40,75
Sacarose (%)	1,31	0,25 - 7,57
Maltose (%)	7,31	2,74 - 15,98
Outros (%)	3,1	0,00 - 13,20
pH	3,91	3,42 - 6,10
Acidez livre (mEq/Kg)	22,03	6,75 - 47,19
Acidez total (mEq/Kg)	29,12	8,68 - 59,49
Cinzas (%)	0,169	0,02 - 1,03
Nitrogênio (%)	0,041	0,00 - 0,13
Diástase	20,8	2,10 - 61,20

Fonte: Pereira et al. (2003).

O semiárido nordestino brasileiro caracteriza-se por períodos curtos e irregulares de chuva, grandes áreas com solos de baixa fertilidade e pouca profundidade, e em sua maioria cobertos de matas silvestres caracterizadas pela intensidade de sua florada natural. Esta situação é encontrada em mais de 50% do Nordeste, dificultando a exploração agrícola pelo homem. Entretanto, por outro lado, é uma região promissora para desenvolvimento de grandes projetos apícolas, uma vez que proporciona um pasto apícola sem qualquer contaminação química, com possibilidade de obter o mel orgânico (livre de agrotóxicos e medicamentos). A apicultura tem desenvolvido importante papel econômico, social e ecológico no Nordeste brasileiro porque gera renda aos agricultores, ocupa a mão-de-obra familiar e contribui para o aumento da diversidade biológica do ecossistema (ALCOFORADO FILHO e GONÇALVES, 2000; SOUZA, 2002).

Desde tempos remotos, o mel é utilizado para elaboração de bebidas fermentadas, sendo o hidromel a mais conhecida. O mel, por ser basicamente uma solução saturada de açúcares e água (PEREIRA *et al.*, 2003), é altamente fermentescível, e ao ser utilizado como matéria-prima na elaboração de bebidas alcoólicas promove o aumento no teor alcoólico dessas (KUNZE, 2006).

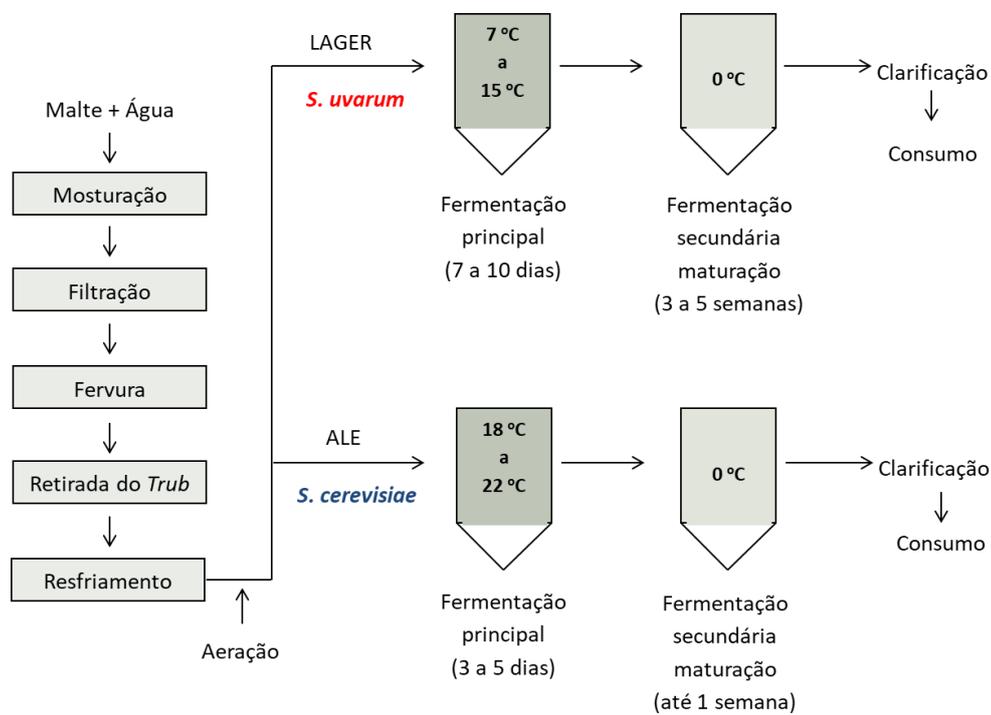
A adição de mel em cerveja proporciona uma bebida menos encorpada e aumenta a quantidade de álcool (SMITH, 2009).

4. PROCESSO TRADICIONAL DE PRODUÇÃO DE CERVEJA

Apesar de existirem variações na forma de produção da cerveja, dependendo do tipo de cerveja que se quer produzir (*lager* ou *ale*), o processo completo consiste basicamente em: moagem do malte, mosturação, filtração, fervura e tratamento do mosto, fermentação, maturação e clarificação.

A sequência básica dos processos utilizados para a produção de cervejas é similar ao que está mostrado na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Preparação dos principais tipos de cerveja.



Fonte: Adaptado de RUSSEL (1994).

4.1. Moagem do malte e mosturação

É considerada uma etapa crítica na produção da cerveja pelo cuidado e precisão que se deve ter com o malte, tempo e temperatura, a fim de se obter a maior quantidade de extrato, ou seja, o maior rendimento, sendo possível extrair até 65% de sólidos do malte. Para tanto, deve-se ter atenção ao tipo de moagem, que pode favorecer a ação das enzimas sobre os componentes insolúveis do malte, influenciando na formação de extrato (REINOLD, 1997).

Na mosturação, o malte é moído e misturado com água. As enzimas presentes no próprio malte são então ativadas de acordo com um perfil de temperatura controlado, o qual permite hidrolisar o amido em mono, di, trissacarídeos e dextrinas, e as proteínas em peptídeos e aminoácidos (CARVALHO, 2009).

A mosturação pode ser realizada por decocção ou infusão. Há formação de açúcares não fermentescíveis (maltotetraose 2-6%; maltopentaose 1-2%; maltohexaose 2-6% e dextrinas superiores 15-20%) e de fermentescíveis (maltose 48-52%; glicose 12-15%; frutose 4-6% e sacarose 4-6%); decomposição de betaglucanos (em altas quantidades interferem negativamente elevando a viscosidade, dificultando a etapa de filtração do mosto); formação de cor (o que também depende do tipo do malte que está se utilizando) e aroma (TELES, 2007).

No processo de cocção, o cozimento do mosto começa com a simples solubilização de aminoácidos e com ação das beta-glucanases (ótima ação a 40 °C e inativada a 60 °C / pH ótimo= 5) sobre os beta-glucanos das paredes das células de amido do malte, juntamente as proteases (ótima ação a 45-55 °C/ pH ótimo= 5,2-8,2) do malte hidrolisam as proteínas em simples peptídeos e aminoácidos. Em seguida, com a ação das beta-amilases (ótima ação à 63°C e inativação aos 68 °C/ pH ótimo= 5,4-5,6) – e alfa-amilases (ótima ação a 70 °C e inativação aos 74 °C / pH ótimo= 5,6 - 5,8), tem-se a sacarificação do amido e obtenção de maltose, principalmente e dextrinas (HARDWICK, 1994).

Em resumo, a sacarificação das moléculas de amido (amilose e amilopectina) ocorre com α -amilase (exoenzima) e β -amilase (endoenzima). Primeiramente a beta cliva unicamente as ligações do amido β -1-4, duas a duas dando origem à maltose e uma α -dextrina e posteriormente, a alfa age quebrando ligações α -1-4 de forma desordenada, formando dextrinas menores e sacarídeos. Deve-se observar que na etapa de mosturação e lavagem do bagaço de

malte são extraídos também os polifenóis que dão sabor adstringente à cerveja assim como o escurecimento devida à formação de flobafenos, polímeros de compostos fenólicos. Quanto maior o pH do mosto maior é a extração desses polifenóis da casca do malte (TELES, 2007).

Essa fase do processo necessita de um tempo de aproximadamente 2 h para ser completada. Após esse tempo, a fração insolúvel do malte (bagaço de malte) é removida por filtração, obtendo-se uma solução denominada mosto (CARVALHO, 2009).

4.2. Filtração, fervura e tratamento do mosto

A filtração do mosto tem por objetivo a separação da parte sólida, chamada de bagaço de malte, e a parte líquida, o mosto cervejeiro, de real interesse para o processo de manufatura (BLEIER; *et al*, 2013).

A próxima etapa consiste na adição de lúpulo e cozimento do mosto durante 1 a 2 h para assegurar a assepsia necessária do meio, promover a precipitação de compostos (complexos formados com proteínas e polifenóis), solubilizar e isomerizar componentes do lúpulo, remover compostos responsáveis por sabores desagradáveis no produto final, inativar as enzimas presentes e permitir a obtenção da concentração desejada de extrato. Ao final do cozimento, o precipitado formado é removido e o mosto é resfriado até a temperatura de fermentação, aerado e inoculado na linha de transferência para o fermentador (CARVALHO, 2009).

A coagulação proteica depende do ponto isoelétrico (cargas positivas iguais às cargas negativas). Estudos realizados mostram que a melhor sedimentação ocorre entre os pHs 5,0-5,2. Além disso, pH menor que 5,5 favorece a conversão dos compostos extraídos do lúpulo como também contribui para a esterilização do mosto. É certo que a destruição térmica dos microrganismos não é total, apenas elimina-se patógenos e deteriorantes do processo (BRIGGS; *et al*, 2004).

Sabe-se que as proteínas formadoras de espuma são diferentes das formadoras de turbidez e que a estabilidade da espuma é favorecida com a interação de certas cadeias de proteínas (albuminas) com os iso-alfa ácidos provenientes do lúpulo e desfavorecida pelos

ácidos graxos, devido à sua ação competitiva sobre os tensoativos peptídicos (BRIGGS; *et al.*, 2004).

A otimização na temperatura de fervura do mosto – menor binômio tempo/temperatura - é essencial para se obter também qualidade de espuma, pois há mais disponibilidade dessas proteínas de alto peso molecular formarem espumas firmes e estáveis. No entanto, em temperaturas de 96-110 °C ao nível do mar, há um impacto que dificulta a solubilidade e a habilidade dessas proteínas promoverem espuma (VAN NIEROP *et al.*, 2004).

4.3. Fermentação

O processo de fermentação é iniciado após a inoculação da levedura, com o mosto já devidamente resfriado e aerado. Nessa etapa, ocorre a liberação de CO₂ e calor nessa fase do processo (SANTOS, 2008). A etapa inicial de fermentação do mosto, denominada fermentação primária ou principal, é a fase de maior atividade metabólica da levedura, durante a qual quase todo o extrato fermentescível é convertido em álcool e gás carbônico. Durante este período ocorrem também algumas reações que resultam na formação de subprodutos (ésteres, álcoois superiores e outros) que exercem um importante efeito no sabor da cerveja (CARVALHO, 2009).

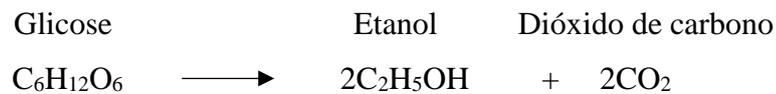
4.3.1. Fermentação alcoólica

Do ponto de vista biológico, a fermentação é a produção de energia a partir de nutrientes. Aplicada ao universo alimentar trata-se da transformação da comida por bactérias e fungos (leveduras) – e pelas enzimas que eles produzem. Fenômeno natural e complexo, a fermentação não foi criada pelo homem. Foi ele, porém, que, depois de muito observar, aprendeu a controlar alguns desses processos para, entre outras razões, conservar os alimentos por um tempo maior (FIDALGO, 2013).

Na fermentação alcoólica de açúcares, por ação de leveduras, os principais produtos obtidos são o etanol e o dióxido de carbono (Figura 4.2). Esse mecanismo foi quantificado pela

primeira vez por Gay-Lussac, onde 100 kg de glicose rendem 51,1 kg de etanol e 48,9 kg de dióxido de carbono (ILHA et al., 2008).

Figura 4.2 - Conversão estequiométrica da glicose a etanol e dióxido de carbono.
(Equação de GayLussac).



Fonte: Ilha et al. (2008).

A fermentação alcoólica é, portanto, um processo biológico conduzido pela levedura, comumente a *Saccharomyces cerevisiae*, na forma unicelular com 2 a 8 micrômetros de diâmetro, cuja fisiologia e bioquímica tem sido negligenciada em favor de uma visão físico-química e mecânica do processo. Porém, trata-se de um organismo vivo, com múltiplas habilidades metabólicas, podendo alterar a estequiometria da fermentação em resposta a alterações do meio, com grande impacto no rendimento do processo (LIMA, BASSO, AMORIM, 2001). Estas se reproduzem basicamente por gemação (brotamento), em que a célula mãe, após um período de união entre os citoplasmas, dá origem a uma nova célula (STECKELBERG, 2001).

A cerveja é outro produto que depende intimamente das leveduras. A bebida pode ser fabricada a partir de diferentes tipos de fermentação, mas as duas mais comuns são as leveduras de fermentação tipo *ale* (com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*), ou de fermentação tipo *lager* (*Saccharomyces cerevisiae uvarum* ou *carlsberensis*). A escolha de uma ou de outra interfere no sabor final e na velocidade do processo: a primeira é de rápida fermentação; e a segunda, de lenta (FIDALGO, 2013).

A principal rota metabólica envolvida na fermentação alcoólica em leveduras é a glicólise (rota Embden-Meyerhof-Parnas ou EMP), através da qual uma molécula de glicose é oxidada e duas moléculas de piruvato são produzidas (MADIGAN, MARTINKO e PARKER, 2000).

Teoricamente, o rendimento é 0,511 para etanol e 0,489 para CO₂ em uma base mássica, utilizando como substrato uma hexose. Dois ATPs produzidos na glicólise são usados na

condução da biossíntese das leveduras, que envolve diversas biorreações que requerem energia. Portanto, a produção de etanol está fortemente relacionada com o crescimento das leveduras, o que significa que leveduras devem ser produzidas como subproduto. Sem o consumo de ATP pelo crescimento celular, o metabolismo glicolítico seria interrompido imediatamente, em razão do acúmulo intracelular de ATP, que inibe a fosfofrutoquinase, uma das mais importantes enzimas reguladoras da glicólise (BAI, ANDERSON, MOOYOUNG, 2008).

Além de etanol e gás carbônico, vários subprodutos também são produzidos durante a fermentação, sendo o glicerol, o principal deles. A formação destes subprodutos, bem como o crescimento celular, inevitavelmente direciona alguns intermediários glicolíticos para as suas correspondentes rotas metabólicas, diminuindo o rendimento de produção do etanol (BAI, ANDERSON, MOO-YOUNG, 2008).

Durante o crescimento, as células utilizam os substratos para suprir duas necessidades principais: acumular energia e produzir metabólicos para formar novas células. As leveduras podem obter energia através das vias respiratória e fermentativa, sendo o etanol e o glicerol os dois principais produtos gerados da fermentação de glicose e galactose. A formação de produtos que levem a um rendimento positivo de ATP fornece aos microrganismos energia livre para crescimento e também para manutenção dos processos intracelulares (KOK, 2012).

A fermentação alcoólica é a ação de leveduras sobre açúcares fermentescíveis contidos em uma solução. É um processo biológico no qual a energia fornecida por reações de oxidação parcial pode ser utilizada para o crescimento de leveduras e a oxidação parcial anaeróbia da hexose na produção de álcool e CO₂ (LIMA, MARCONDES, 2002). A transformação da sacarose em CO₂ envolve 12 reações em sequência ordenada, cada qual catalisada por uma enzima específica. Tal aparato enzimático encontra-se confinado no citoplasma celular, sendo, portanto, nessa região da célula que a fermentação alcoólica se processa (LIMA, BASSO, AMORIM, 2001).

Diversos fatores físicos (temperatura, pressão osmótica), químicos (pH, oxigenação, nutrientes minerais e orgânicos, inibidores) e microbiológicos (espécie, linhagem e concentração da levedura, contaminação bacteriana), afetam o rendimento da fermentação e a eficiência da conversão de açúcar em etanol (LIMA, BASSO, AMORIM, 2001). Durante a fermentação, a levedura pode estar exposta a vários fatores estressantes. Dentre esses fatores, os mais frequentemente mencionados são os altos teores alcoólicos, a temperatura elevada, a acidez do meio (inclusive no tratamento ácido), a presença de sulfito, a contaminação bacteriana

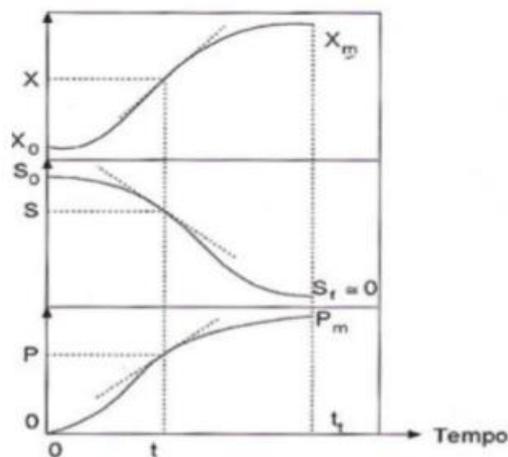
e, mais raramente documentada, a contaminação com leveduras não *Saccharomyces* (PACHECO, 2010).

4.3.2. Cinética de fermentação

Conforme Viegas (2003), o estudo cinético relacionado aos processos microbianos tem como intuito quantificar a taxa de crescimento celular, de consumo de substrato e a formação de produtos, assim como avaliar a influência de alguns fatores externos sob estes parâmetros. Na fermentação alcoólica, por exemplo, pode-se projetar adequadamente uma unidade industrial de produção de etanol a partir da análise destes parâmetros cinéticos.

Hiss (2001) relata que o estudo cinético tem inicialmente como objetivo a análise da evolução dos valores de concentração de um ou mais componentes do sistema de cultivo em função do tempo do processo fermentativo. Estes componentes referem-se ao microrganismo (ou a biomassa), os produtos do metabolismo (ou metabólitos) e os nutrientes ou substratos que compõem o meio de cultura. Tais valores experimentais de concentração (X , P e S respectivamente), quando representados em função do tempo, permitem os traçados das curvas de ajuste, que são indicadas por $X = X(t)$, $P = P(t)$ e $S = S(t)$. A Figura 4.3 é a representação clássica dos perfis das concentrações de substrato, produto e células em função do tempo de fermentação.

Figura 4.3 - Curvas de ajuste dos resultados de uma experiência idealizada de fermentação, onde X, P e S são as concentrações de microrganismo, do produto e do substrato residual no meio, respectivamente.



Fonte: Hiss (2001).

A partir dessas curvas é possível calcular as velocidades específicas de crescimento celular (μ_x), de consumo de substrato (μ_s) e formação de produto (μ_p) através das tangentes.

4.4. Maturação e clarificação

Após a retirada da levedura, acontece a diminuição de temperatura no tanque iniciando assim a fase de maturação. Ocorrem importantes reações físico-químicas de transformação do aspecto visual da bebida além da produção de aromas e sabores característicos. Essa etapa é considerada por muitos cervejeiros como a fase de “afinamento” de “acabamento” da cerveja (MORADO, 2009). A etapa de maturação corresponde a redução da temperatura, normalmente a 0°C sendo mantida durante 2 a 4 semanas. Caso haja presença de extrato fermentescível residual na cerveja, este continua a ser fermentado nessas condições, porém de forma mais lenta, sendo esse processo denominado fermentação secundária.

Os principais objetivos da maturação são a redução da concentração dos compostos de sabor indesejável na cerveja, a saturação do produto final com CO₂ e a remoção dos componentes responsáveis pela turbidez (CARVALHO; BENTO; ALMEIDA e SILVA, 2007). De acordo com esses autores, após o processo fermentativo (fermentação/maturação) a cerveja

ainda não está pronta para o consumo e requer vários tratamentos antes de ser engarrafada. Logo, em uma última etapa, a cerveja maturada poderá passar por até seis tratamentos: a) carbonatação; b) modificação de sabor; c) padronização da cor; d) estabilização contra turvação; e) clarificação; f) estabilização biológica.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. As matérias primas

5.1.1. Mel

O mel florada silvestre foi adquirido através de uma Cooperativa de Apicultores localizada no município de Inhambupe-BA.

5.1.2. Mosto cervejeiro

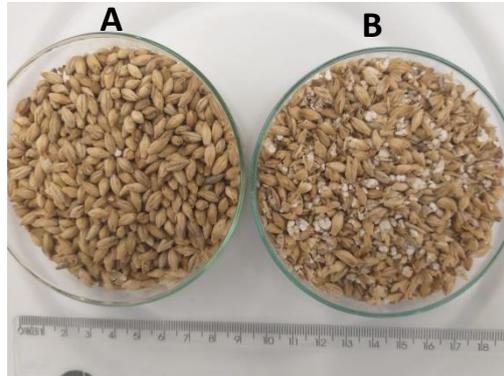
Os ingredientes do mosto cervejeiro (malte pilsen, lúpulo e levedura *Ale* – Fermentis S-04), foram adquiridos em lojas especializadas em insumos cervejeiros (WE Consultoria e Bahia Malte) e o mosto foi produzido segundo a metodologia de Carvalho (2009).

5.2. Preparo e tratamento do mosto

A elaboração dos mostos com concentração de 16, 18, 20, 22 e 24 °Plato foi realizada pelo preparo de um mosto base, ou seja, puro malte, com concentração aproximada de 11 °Plato no final da etapa de fervura e foi adicionando mel para atingir as concentrações. Para a preparação do mosto base, foram realizadas as seguintes etapas:

Moagem do malte: foram moídos 8,8 Kg de malte em moinhos de dois rolos, com objetivo de quebrar o grão ao meio e com isso expor o amido presente no interior do grão (Figura 5.1), tornando mais fácil a extração desses açúcares.

Figura 5.1 - (A) Grãos de malte de cevada; (B) Grãos de malte moídos.



Fonte: O autor.

Mosturação: o malte moído (8,8 Kg) foi misturado a água primária (43,8 L) a 35 °C. A operação foi conduzida em panelas com capacidade para 100 L aquecidas por chama, com indicador de temperatura (termômetro digital) (Figura 5.2).

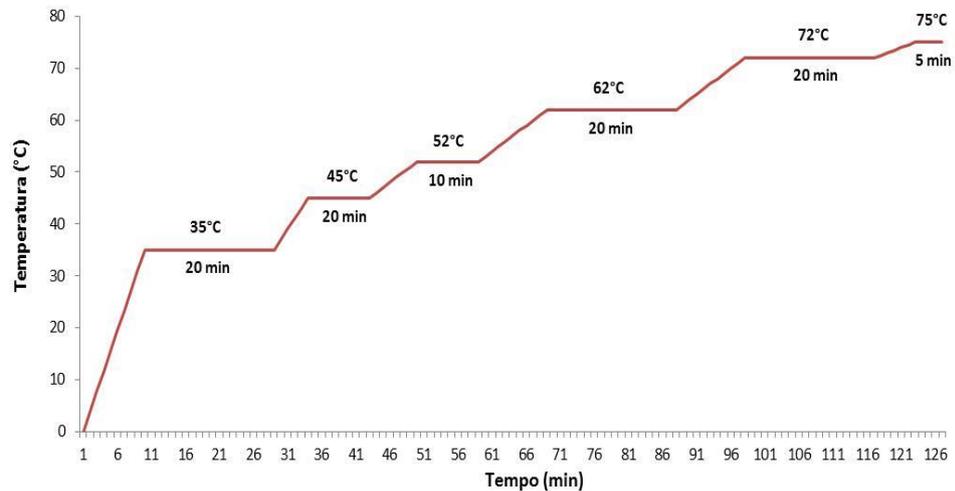
Figura 5.2 - (A) Sistema de panelas utilizadas para a brassagem do mosto cervejeiro;
(B) Grãos de malte imersos em água na panela de mostura.



Fonte: O autor.

A temperatura variou de 35 a 75 °C. o pH inicial foi ajustado em 5,4 pela adição de ácido láctico ou bicarbonato de amônio, a depender do tipo de ajuste necessário, e tamponado com CaCl_2 na proporção de 1,26 g/Kg do malte. O perfil de temperatura e tempo de ativação de cada enzima foi de 35, 45, 52, 62, 72, 75 °C, por 20, 10, 10, 20, 20, 5 minutos, respectivamente. Conforme proposto por Carvalho e Zambiasi (2011), retratado na Figura 5.3.

Figura 5.3 - Tempos e temperaturas utilizados na mosturação pelo processo de infusão.



Fonte: Adaptado de Carvalho e Zambiasi (2011).

No final da mosturação em 72 °C foi realizado o teste com solução de iodo 0,2 N a fim de verificar a sacarificação do amido do malte. Após a confirmação da completa hidrólise desta macromolécula, pela ausência da coloração roxo-azulada, característica da reação com a solução de iodo (em temperatura ambiente), a solução foi aquecida até 75 °C com o objetivo de inativar as enzimas presentes.

Filtração: a filtração da mostura foi realizada passando todo conteúdo da panela para outra panela por meio de ação da gravidade, essa segunda panela contém um fundo falso com ranhuras (Tina de Filtração). A própria casca do malte serviu como camada filtrante, auxiliando no processo, mostrado na Figura 5.4. Após a filtração, a camada filtrante (casca de malte) foi lavada com 18,6 L de água (denominada água secundária) a 75 °C.

Figura 5.4 - Mosto sendo transferido para a panela de filtração por ação da gravidade e as cascas de malte atuando como agente filtrante.



Fonte: O autor.

Fervura: após o processo de filtração, o mosto foi transferido para outra panela de mesma capacidade das outras duas, também por ação da gravidade. Essa panela foi aquecida por meio de chama, e o mosto foi fervido por uma hora.

Decorrido os primeiros 15 minutos de fervura, foi acrescentado o lúpulo em extrato (responsável pelo amargor da cerveja) na concentração de 0,10 g/L em relação ao volume inicial de fervura, como mostrado na Figura 5.5. Decorrido 45 minutos desde o início da fervura, foi acrescentado o lúpulo em *pellets* (responsável pelo aroma da cerveja) na concentração de 0,82 g/L em relação ao volume inicial de fervura. O mosto foi mantido em fervura por 60 minutos, permitindo uma evaporação máxima de até 20% do volume inicial.

O mosto então foi agitado em movimentos circulares no sentido horário, até que se forme uma espécie de ciclone no mosto, permitindo a precipitação de proteínas e polifenóis, formando o sedimento no fundo da panela (comumente denominado de *trub* pela indústria). Então o mosto foi resfriado até uma temperatura de 30 °C e aerado através de uma bomba de CO₂. Esse mosto então foi engarrafado em frascos de 1 e 2 L e congelados para posterior uso nas fermentações.

Figura 5.5 - Mosto sendo fervido e adicionado o lúpulo em extrato.



Fonte: O autor

Para cada fermentação foi utilizado o mosto puro malte pronto e foi adicionado o mel até que se atingisse a concentração desejada (16, 18, 20, 22 e 24 °Plato). Para cada ensaio foram preparados 300 mL de mosto utilizando um sistema que consistia em frascos de 500 mL equipados com uma válvula de trava (airlock), utilizada para libertar o CO₂ produzido a partir da fermentação em três repetições (Figura 5.6).

Figura 5.6 - Sistemas de fermentação em escala laboratorial.



Fonte: O autor.

A inoculação da levedura correspondeu a 10% do mosto (30 mL) contendo 10^8 cel/mL e os frascos foram mantidos durante a fermentação alcoólica em duas condições de temperatura, uma a 15 °C e outra a 22 °C. Os sistemas de fermentação foram mantidos na incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) (marca Quimis Invernadora de Estufa, modelo Q315M25) onde a temperatura foi estabilizada sem agitação. O tempo total de fermentação foi 10 dias (240 h).

5.3. Avaliação das características físico-químicas do mel, mosto puro malte e cervejas.

No mel, mosto puro malte e cervejas fermentadas, foram realizadas as análises físico-químicas em triplicata de umidade, cinzas, ácidos totais e inorgânicos, sólidos insolúveis, Teste de lugol e proteínas segundo o Instituto Adolfo Lutz (2008); açúcares redutores e carboidratos totais segundo Nelson (1944) e Dubois et al. (1956), respectivamente; e determinação de pH e teor de sólidos solúveis (°Brix). Para o mosto cervejeiro, foram feitas avaliações em triplicata de umidade, cinzas, ácidos totais, inorgânicos e orgânicos (ácido cítrico), proteínas segundo o Instituto Adolfo Lutz (2008); açúcares redutores e carboidratos totais segundo Nelson (1944) e Dubois et al. (1956), respectivamente; e determinação de pH e teor de sólidos solúveis (°Brix) e a análise de cor para as amostras de cervejas segundo EBC (2005).

As determinações foram realizadas conforme a seguir:

5.3.1. Umidade

A umidade expressa, em percentagem, foi avaliada através da leitura do índice de refração do mel a 20 °C e corrigido para a temperatura ambiente (28 °C), onde, numa escala relaciona-se o índice de refração com a umidade, segundo Instituto Adolfo Lutz (2008). Para o mosto e a cerveja, a umidade foi determinada através da secagem em estufa a 105 °C, até peso constante, segundo Instituto Adolfo Lutz (2008).

5.3.2. Cinzas

As cinzas foram determinadas a partir da incineração da amostra em mufla a 550°C durante 4 horas. A metodologia utilizada foi de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em porcentagem (m/m).

5.3.3. Acidez total titulável

A determinação de acidez pode fornecer um dado valioso na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício. Um processo de decomposição seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons de hidrogênio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008) A acidez total foi obtida pela técnica de acidez titulável com soluções de álcali padrão, com NaOH 1 M e utilizando a fenolftaleína como indicador conforme estabelecido pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), podendo ser expressa em mL de solução molar por cento ou em gramas do componente ácido principal.

5.3.4. Sólidos solúveis (°Brix)

A leitura dos sólidos solúveis totais foi realizada através do refratômetro portátil digital Reichert tecnal AR-200, colocando aproximadamente 2 gotas da amostra no local indicado para a leitura.

5.3.5. Teste de lugol

Esse teste pesquisa a presença de amido e dextrinas no mel de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008). A amostra foi misturada com água, agitada, aquecida em banho Maria, e em seguida foi resfriada à temperatura ambiente e adicionado solução de lugol. Na presença de glicose comercial ou xaropes de açúcar, a solução fica colorida de marrom avermelhada a azul. A intensidade depende da qualidade e da quantidade das dextrinas ou amido presentes na amostra fraudada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

5.3.6. Proteína total

A análise de proteína total foi realizada segundo a metodologia de Kjeldahl conforme estabelecido por Instituto Adolfo Lutz (2008). Os resultados foram expressos em percentagem mássica (m/m).

5.3.7. Açúcares redutores

A determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson segundo Nelson (1944) é baseada nas propriedades redutoras dos açúcares, pela redução do cobre, seguida da formação de um complexo cobre-molibdato de arsênio quantificado colorimetricamente. Foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro Femto 600 plus em 540 nm. Os resultados foram expressos em percentagem (m/v).

5.3.8. Açúcares totais

Foi utilizado o método de Dubois et al. (1956), que se baseia na determinação de açúcares simples, polissacarídeos e seus derivados havendo a reação dos mesmos com o ácido sulfúrico, sendo que o fenol na presença do ácido é usado para microdeterminação colorimétrica quantitativa de açúcares e seus derivados metil, oligossacarídeos e polissacarídeos. Os teores de açúcares totais foram determinados por espectrofotometria (Femto 600 plus) a um comprimento de onda de 490 nm. Os resultados foram expressos em percentagem (m/v).

5.3.9. Determinação de pH

O pH foi determinado pelo método potenciométrico utilizando-se um pHmetro e bancada (Gehaka pg 1800) com calibração a 98% feita em solução tampão de pH 4,0 e 7,0, a 25 °C.

5.3.10. Cor

A cor foi determinada pelo método espectrofotométrico com comprimento de onda de 430 nm segundo a metodologia da EBC (2005), utilizando o espectrofotômetro (SHIMADZU UV mini-1240).

5.4. Propagação das leveduras

Foi preparada 100 mL de uma mistura de 16, 18, 20, 22 e 24 °Plato contendo mosto e mel em frascos Erlenmeyers de 125 mL. Foi então adicionadas 0,2 g da respectiva levedura liofilizada para a propagação em agitador rotatório Shaker (Tecnal TE-420) nas condições de 15 e 22 °C, 150 rpm durante 24 h, onde no final desse período foi feita a contagem celular em câmara de Neubauer. Essa contagem tem que atingir no mínimo 10^8 células/mL. Caso contrário, acrescenta-se mais 24 horas. A propagação foi realizada em três repetições.

5.5. Acompanhamento das fermentações

Em cada período de 12 horas, foi feita uma amostragem asséptica para avaliar os parâmetros de fermentação e crescimento, utilizando um sistema tipo sonda e seringa. Para contagem de células e viabilidade celular utilizou-se uma câmara Neubauer e microscópio BEL Photonics; e monitorização da concentração de sólidos solúveis (°Brix) num Refratômetro portátil digital (Reichert Tecnal AR-200).

5.5.1. Concentração celular e viabilidade celular

A determinação da concentração celular (cel/mL) foi realizada em câmara de Neubauer ($1/400 \text{ mm}^2 \times 1/10 \text{ mm}$) e para determinação das células viáveis e não viáveis, utilizou-se o Método Internacional de Coloração, utilizando azul de metileno segundo ASBC (1996). A viabilidade celular foi calculada a partir da Equação 1.

$$\text{Viabilidade Celular (\%)} = \left(\frac{\text{número de células viáveis}}{\text{número de células totais}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

5.5.2. Teor de etanol e extrato aparente

O teor de etanol (% v/v), extrato aparente (g/L) foram determinados através do densímetro de bancada (marca Rudolph Research Analytical, modelo DDM 2911).

Para a transformação do teor de etanol (% v/v) para g/L utilizou-se a Equação 2.

$$\text{Etanol } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \text{Etanol } \left(\% \frac{\text{v}}{\text{v}} \right) \times 0,789 \times \rho \quad \text{Eq. 2}$$

Para a transformação do teor de extrato aparente de °P para concentração em g/L, utilizou-se a Equação 3.

$$\text{Ext. ap. } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \text{Ext. ap. } (^\circ\text{P}) \times 10 \times \rho \quad \text{Eq. 3}$$

Onde: 0,789 g/mL é a densidade do etanol a 20°C e ρ é a densidade do mosto (g/mL).

5.6. Determinação de parâmetros fermentativos

Os parâmetros fermentativos foram determinados conforme descrito abaixo:

Os parâmetros, produtividade volumétrica etanol (Q_p , g/L.h) e o rendimento em etanol ($Y_{p/s}$, g/g) foram calculados de acordo com Borzani (1986) e Moser (1988) de acordo com as equações 4.

1- Fator de conversão substrato em etanol

$$Y_{\frac{p}{s}} \left(\frac{\text{g}}{\text{g}} \right) = \left(\frac{P_f - P_i}{S_i - S_f} \right) \quad (\text{Eq. 4})$$

2- Produtividade volumétrica em etanol

$$Q_p \left(\frac{\text{g}}{\text{L.h}} \right) = \left(\frac{P_f - P_i}{T_f - T_i} \right) \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde: S_i e S_f : Concentração aparente inicial e final respectivamente (g/L); P_i e P_f : Concentração de etanol inicial e final respectivamente (g/L); T_i e T_f : Tempo inicial e tempo final de fermentação (h).

3- Grau Aparente de Fermentação (GAF)

$$GAF (\%) = \left(\frac{\text{extrato aparente inicial} - \text{extrato aparente final}}{\text{extrato aparente inicial}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

4- Velocidade específica de crescimento celular.

$$\mu_x = \left(\frac{1}{X} \right) \left(\frac{dX}{dt} \right) \quad (\text{Eq. 7})$$

5- Velocidade específica de consumo de substrato.

$$\mu_s = \left(\frac{1}{X} \right) \left(\frac{-ds}{dt} \right) \quad (\text{Eq. 8})$$

6- Velocidade específica de formação de produto

$$\mu_p = \left(\frac{1}{X} \right) \left(\frac{dP}{dt} \right) \quad (\text{Eq. 9})$$

Onde: dx é a derivada no ponto da concentração celular inicial e final respectivamente; ds é a derivada no ponto da concentração de substrato inicial e final respectivamente; dp é a derivada no ponto da concentração de etanol inicial e final respectivamente; dt é a variação de tempo inicial e tempo final de fermentação.

5.7. Análise estatística dos dados fermentativos

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Realizaram-se ainda análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias dos resultados fermentativos obtidos das diferentes formulações do mosto, usando o programa SISVAR (5.0). Diferenças entre as médias no nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significativas.

5.7.1. Análise estatística dos dados da caracterização físico-química das amostras de cerveja

Toadas as análises das amostras de cerveja foram realizadas em triplicata, e todos os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Para as análises do mosto,

foram realizadas ainda análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias dos resultados obtidos das diferentes formulações, usando o programa SISVAR (5.0). Diferenças entre as médias no nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significativas.

5.8. Produção da cerveja em escala piloto

Foram produzidas duas cervejas na Planta Piloto do Laboratório de Fermentação da Universidade Estadual de Feira de Santana - BA, uma com a menor concentração inicial de mosto (16°Plato) e a outra com a maior concentração (24°Plato), seguindo o que foi descrito no item 5.2.

Figura 5.7 - Planta piloto do Laboratório de Fermentação da UEFS – BA.



Fonte: O autor.

5.9. Análise sensorial

A análise sensorial das cervejas produzidas em escala piloto, nos experimentos otimizados, foram realizadas por Teste de Preferência do tipo Comparação Pareada e Teste de Aceitação com escala hedônica estruturada de nove pontos, segundo Mellgaard; Civille; Caar, 1999. Os resultados foram processados estatisticamente de acordo com Carneiro; Minin, 2006.

Os testes estatísticos foram realizados com o público universitário, na faixa etária de 18 a 50 anos, no laboratório de análise sensorial da Universidade Estadual de Feira de Santana. Os

testes sensoriais foram feitos com as duas cervejas experimentais otimizadas. No teste de aceitação as amostras foram apresentadas aos julgadores de forma monádica e sequencial. Já no teste de preferência as amostras foram apresentadas aos julgadores aos pares. Todas as amostras foram balanceadas. No convite ao teste sensorial, foi pedido como pré-requisito aos provadores, serem maiores de 18 anos e gostarem de cerveja. O modelo das fichas utilizadas nos testes de aceitação e de preferência se encontram nas Figuras 5.7 e 5.8 respectivamente.

Figura 5.7 - Ficha utilizada nos testes de preferência com escala hedônica estruturada de 9 pontos.

Nome:	Idade:
<p>Avalie a amostra codificada de cerveja e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou da amostra.</p> <p style="text-align: center;">Amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> – gostei muitíssimo (adorei) <input type="checkbox"/> – gostei muito <input type="checkbox"/> – gostei moderadamente <input type="checkbox"/> – gostei ligeiramente <input type="checkbox"/> – nem gostei / nem desgostei <input type="checkbox"/> – desgostei ligeiramente <input type="checkbox"/> – desgostei moderadamente <input type="checkbox"/> – desgostei muito <input type="checkbox"/> – desgostei muitíssimo (detestei) <p>Comentários:</p>	

Fonte: O autor.

Figura 5.8 - Ficha utilizada nos testes de aceitação do tipo comparação pareada.

Nome:	Idade:
<p>Por favor, prove da esquerda para a direita as duas amostras codificadas de cerveja e faça um círculo na amostra de sua preferência.</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p>Comentários:</p>	

Fonte: O autor.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1. Caracterização do mel

A caracterização físico-química do mel fornece um conhecimento prévio do teor de açúcares e a pureza da matéria prima. Neste trabalho, que tem como objetivo a aplicação biotecnológica do mel para aumentar a concentração de açúcares do mosto cervejeiro, fez-se necessário conhecer sua principal composição, até mesmo para posteriores correções, caso houvesse necessidade.

A Tabela 6.1 apresenta os resultados obtidos na caracterização físico-química do mel de abelhas (*Apis mellifera*) que será utilizado como adjunto de malte na produção de cervejas não convencionais, esses valores foram comparados com o que é dito como padrão pela legislação brasileira.

Tabela 6.1 - Características físico-químicas do mel e recomendação da legislação brasileira.

PARAMÊTRO	RESULTADO	LEGISLAÇÃO BRASILEIRA
Umidade (%)	19,04 ± 0,267	< 20
Sólidos Solúveis (°Brix)	80,00 ± 0,133	NA
Proteína Bruta (g/100g)	5,08 ± 0,452	NA
Lipídios (g/100g)	0,15 ± 0,007	NA
Acidez Livre (meq/Kg)	38,48 ± 0,422	< 50
Acidez Lactônica (meq/Kg)	4,985 ± 0,398	< 10
Acidez Total (meq/Kg)	43,55 ± 0,434	< 50
Açúcares Redutores (g/100g)	87,73 ± 3,376	> 65
Açúcares Totais (g/100g)	88,23 ± 0,059	NA
pH (adimensional)	3,84 ± 0,011	(entre 3,3 e 4,6)
Cinzas (%)	0,12 ± 0,017	< 0,6
Amido	AUSENTE	AUSENTE

Notas: os valores são apresentados com média ± desvio padrão e comparados com os limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Fonte: O autor.

A umidade no mel é, sem dúvida, uma das características mais importantes, por influenciar na sua viscosidade, no seu peso específico, na sua maturidade, cristalização e no seu sabor, interferindo na sua conservação e palatabilidade (SEEMANN e NEIRA, 1988). A umidade encontrada na amostra analisada obteve média de 19,04%. A umidade do mel é influenciada pela concentração de extrato (°Brix). Quanto maior for a concentração de açúcares, menor será seu teor de umidade. A umidade encontrada na amostra de mel analisada está de acordo com o esperado e dentro do padrão determinado pela legislação brasileira (BRASIL, 2000).

O mel analisado apresentou teor de sólidos solúveis igual a 80,00 °Brix (Tabela 6.1), apresentando uma grande quantidade de açúcares potencialmente adequada para o processo fermentativo da cerveja, entre outros fatores, os sólidos solúveis são indicativos da evolução da maturação dos méis. A legislação vigente não determina um valor padrão para este parâmetro, porém, quando comparado a outros trabalhos, este apresentou valores menores, como Silva; Queiroz e Figueiredo (2004), que encontraram entre 76,07 a 80,80 °Brix, analisando méis de *Apis*, originários do estado do Piauí. O valor médio encontrado por Silva et al. (2009), foi de 83,28 °Brix. Em análise de 15 amostras provenientes de diferentes cidades do estado de Goiás, a média encontrada foi de 81,04 °Brix, sendo o maior e o menor resultado encontrado de 85 e 78,3 °Brix, respectivamente (SILVA et al., 2003). A leitura do °Brix é um parâmetro utilizado como medida indireta do teor de açúcares, uma vez que à medida que o teor de açúcares aumenta, ocorre simultaneamente uma elevação do teor de sólidos solúveis.

É importante destacar que acidez é resultante dos ácidos orgânicos, que por sua vez têm influência na cor, sabor, odor e qualidade. Os ácidos orgânicos, são importantes não somente por contribuir para o sabor e o aroma da cerveja, mas também por influenciar no pH de forma que um decréscimo durante a fermentação afeta as propriedades da cerveja. O teor médio de acidez das amostras foi de 43,55 meq/Kg (Tabela 6.1), resultado esse que se encontra abaixo do limite máximo da legislação para méis, que é de 50 meq/kg, porém apresentaram-se bem acima dos valores encontrados por Brunelli (2012), com valor médio de 16,36 meq/kg em mel de laranja e Mansano (2010), cujos valores médios de acidez total foram de 29,1 meq/kg para mel de laranja, 17,7 meq/kg para mel de eucalipto e 19,0 meq/kg para mel silvestre.

Os valores de acidez livre (38,48 meq/kg) e lactônica (4,98 meq/kg) apresentaram de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000), e comparando-se com os resultados encontrados por Silva e Bandeira (2012), que analisaram mel de *Apis mellifera* e encontraram

valores de acidez livre, lactônica e total de 33,65 mEq/kg, 8,57 mEq/kg e 42,22 mEq/kg, respectivamente, valores próximos aos do presente estudo.

O mel é constituído por cerca de 181 substâncias, sendo uma mistura complexa de carboidratos, dos quais os açúcares redutores, frutose e glucose, são os principais constituintes (85-95%) (GOMES, 2010). O conteúdo de açúcares redutores obtido na amostra de mel analisada obteve média de 87,73 g/100g (Tabela 6.1). As normas nacionais estabelecem mínimo de 65%, então, o resultado obtido encontra-se dentro dos parâmetros de qualidade exigidos para o mel de *Apis mellífera*. Segundo Gleiter, Horn e Isengard, (2006), os teores de açúcares redutores podem chegar a corresponder a 80% da quantidade total de açúcares do mel. A quantidade e os tipos de açúcares (como frutose, glicose, maltose, tetralose) são responsáveis por determinar vários fatores como a viscosidade, cristalização, densidade, entre outros (BÁREZ et al., 2000). O valor para açúcares totais encontrado foi de 1104,23 mg/L (Tabela 6.1), a legislação brasileira não determina um valor mínimo ou máximo para essa análise,

O pH é considerado como um importante fator antimicrobiano que promove estabilidade ao produto quanto ao que se refere ao desenvolvimento de microrganismos. O valor médio de pH obtido foi de 3,84 (Tabela 6.1). A Instrução Normativa nº 11 (BRASIL, 2000), especifica que o pH deve estar entre 3,3 e 4,6. Portanto, os valores de pH determinados estão de acordo com norma vigente. Estes valores de pH demonstram que o mel é caracterizado como ácido, sendo que esta acidez contribui para a conservação do mel e impede a proliferação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (OSACHLO, 2004). Segundo Moura (2010), a acidez é extremamente importante, também, para a textura, a estabilidade do mel e por realçar seu sabor. O pH (concentração de íons H⁺ em solução) pode influenciar na formação de outros componentes do mel, como na velocidade de produção do HMF (hidroximetilfurfural). Todos os méis são ácidos e o pH é influenciado pela origem botânica, concentração de diferentes ácidos e pelo cálcio, sódio, potássio e outros constituintes das cinzas (SILVA e BANDEIRA, 2012).

O teor de cinzas obtido na amostra de mel analisada foi de 0,12 % (Tabela 6.1). Como as normas nacionais estabelecem máximo de 0,6 %, então, o resultado obtido encontra-se dentro dos parâmetros de qualidade exigidos para o mel. O teor de cinzas expressa a riqueza do mel em minerais e constitui um parâmetro bastante utilizado nas determinações que visam verificar sua qualidade. Os sais minerais encontrados no mel podem ser modificados por fatores

relativos, ao clima, solo, a flora botânica e manuseio do apicultor (SILVA et al., 2009; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2010).

O conteúdo mineral no mel, também, considerado como um critério de qualidade, é um importante índice para avaliar uma possível poluição ambiental e indicar a origem botânica dos méis (SILVA et al., 2009; SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2009). Os minerais influenciam diretamente na coloração do mel, de 0,04% m/m para méis claros até 0,6% m/m para os escuros (MENDES, 2003), porém, a legislação nacional (BRASIL, 2000) estabelece um teor de cinzas no mel de no máximo 0,6% m/m. A legislação internacional (CODEX, 2001) não estabelece valores para este parâmetro.

Em função do alto valor comercial e dificuldade da produção do mel, este, tende muitas vezes ser alvo de recorrentes tentativas de fraudes e adulteração, sendo que as adulterações mais comuns e recorrentes ocorrem pela adição de xaropes com baixo custo comercial, neste sentido, testes adicionais foram realizados para comprovar a pureza e procedência do mel utilizado. Como o resultado do teste foi negativo, isso indica que o mel não foi adulterado. Este teste é um indicador de adulteração, pois quando há adição de amido ocorre uma reação que apresenta mudança de coloração, pois o amido reage com o iodo formando um complexo vermelho-violeta indicando adulteração no mel (DIAS et al., 2009).

6.2. Caracterização do mosto cervejeiro

A caracterização do mosto foi feita segundo a metodologia descrita pelo instituto Adolfo Lutz, 2008. E seus valores estão apresentados na Tabela 6.2.

A umidade de uma cerveja é influenciada pela concentração de extrato (°Plato). Quanto maior for a concentração do extrato do mosto, menor será seu teor de umidade. A umidade encontrada na cerveja analisada foi de 90,86% (Tabela 6.2), e esse valor está de acordo o esperado para uma cerveja puro malte com 11,00 °Plato.

Tabela 6.2 - Características físico-química do mosto cervejeiro puro malte.

PARAMÊTRO	RESULTADO
Umidade (%)	90,86 ± 0,086
Sólidos Solúveis (°Plato)	11,00 ± 0,010
Proteína Bruta (g/100g)	1,60 ± 0,169
Lipídios(g/100g)	1,90 ± 0,204
Acidez Total (meq/kg)	1,50 ± 0,005
Açúcares Redutores (g/100g)	16,00 ± 0,050
Açúcares Totais (g/100g)	21,41 ± 0,013
pH (adimensional)	5,00 ± 0,001
Cinzas (%)	0,19 ± 0,050
Amido	AUSENTE

Notas: os valores são apresentados com média ± desvio padrão.

Fonte: O autor.

O valor de 11,00 °P indica de forma indireta a concentração de açúcares disponíveis na solução do mosto para a levedura realizar as devidas conversões em álcool, calor e dióxido de carbono até consumir todo o substrato dito fermentescível. De acordo com Brasil (2009), as cervejas fabricadas com mostos a 12 °P são classificadas como comuns pela legislação brasileira. Segundo Corazza (2001), o teor de sólidos solúveis indica um teor aproximado de açúcar.

A proteína bruta da cerveja correspondeu a 1,60%. De acordo com Briggs et al. (2004) ressaltam que o conteúdo de nitrogênio total multiplicado pelo fator 6,25 é frequentemente expresso como proteína. Normalmente as cervejas estão na faixa de 0,11 - 0,63% de proteínas. O valor encontrado está muito acima da faixa apresentada pelos autores. O resultado para lipídios totais foi 1,90%. Conforme Azeredo (1999), estes compostos participam de muitas reações no metabolismo da levedura, por exemplo, contribuem na inibição da formação de ésteres de acetato durante o processo fermentativo.

O resultado para acidez titulável foi 1,5 meq/kg, sendo que o adequado era que ele estivesse na faixa de 0,09-0,15 meq/kg de acidez. É importante destacar que acidez é resultante dos ácidos orgânicos, que por sua vez têm influência na cor, sabor, odor e qualidade. Os ácidos orgânicos são importantes não somente por contribuir para o sabor e o aroma da cerveja, mas

também por influenciar no pH de forma que um decréscimo durante a fermentação afeta as propriedades da cerveja.

O teor de açúcares redutores é uma informação fundamental para que o mosto cervejeiro possa ser preparado de forma correta, pois, serão os açúcares redutores que serão convertidos em álcool através da ação das leveduras. O valor encontrado para essa análise foi de 16,00 g/100g e o valor encontrado para açúcares totais foi de 21,41 g/100g (Tabela 6.2), Araújo (2016), encontrou valor de 11,60 g/100g e 12,65 g/100g, respectivamente

A cerveja é um produto suavemente ácido, de forma que o malte de cevada clássica possui pH na faixa de 4-5 e as tipo “ale” variam de 3-6. O pH da cerveja analisada foi 5, o que adequado para uma cerveja tipo “ale”. Durante o processo fermentativo o pH diminui. Conforme Kunze (2006), a faixa de pH ideal para um mosto é 5,3 – 5,5. Bamforth (2003) também relata uma faixa com valores próximos a do autor citado, que é compreendida entre 5,2 - 5,5. O teor de cinzas da cerveja foi influenciado pelo extrato primitivo, normalmente cervejas do tipo puro malte apresentam maiores teores de cinzas do que cervejas que utilizam adjuntos.

A etapa da mosturação tem como principal objetivo a conversão do amido do malte em açúcares menores (glicose, maltose e maltotrioses) através da ativação das enzimas produzidas durante a malteação. O amido é formado pela combinação da amilose com a amilopectina, que são moléculas com alto peso molecular e podem sofrer reações de complexação, com formação de compostos coloridos. A não presença de amido significa que todo ele foi convertido em açúcares menores, que é o desejável para um mosto de boa qualidade. Resíduos de amido não degradado podem provocar problemas de fermentação, na filtração, turbidez e estabilidade coloidal da cerveja pronta (Feistler, 2014).

6.3. Acompanhamento analítico da fermentação em escala laboratorial

Os dados de acompanhamento da fermentação: concentração celular e viabilidade celular, consumo de substrato e produção de etanol, estão descritos nas Figuras 6.1, 6.2, 6.3 e 6.4, respectivamente. Produção de Etanol (%v/v), Produção de Etanol (g/L), Produtividade Volumétrica – Q_p (g/L.h), Fator de Conversão de Substrato em Produto – $Y_{p/s}$ (g/L) e Grau Aparente de Fermentação – GAF (%) estão descritos nas Tabelas 6.3 e 6.4.

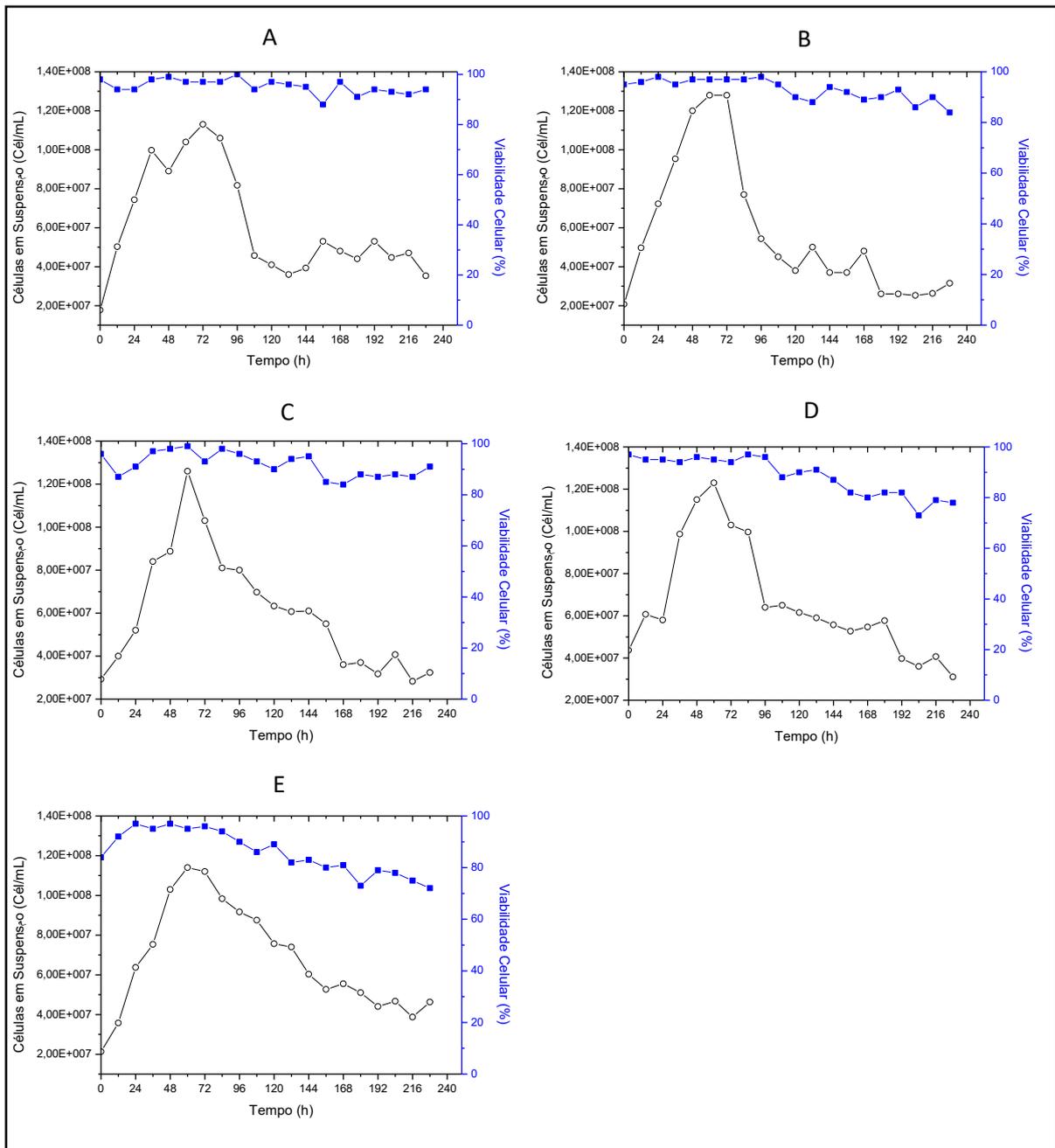
6.3.1. Crescimento e viabilidade celular

Conforme a representação gráfica da Figura 6.1, quanto a concentração de células viáveis e viabilidade celular em função do tempo na fermentação conduzida a 15 °C, foi possível observar que não ocorreu a fase *lag* ou de latência, que é a etapa de adaptação. Isso pode ser explicado por conta da etapa de propagação da levedura. Onde nessa etapa que antecede a inoculação, a levedura consegue se adaptar as condições de nutrientes do meio reacional de cada concentração.

A fase logarítmica ou exponencial, etapa na qual o crescimento celular é mais expressivo, logo, o consumo do substrato e formação do produto (etanol) é maior. A concentração máxima de células em todas as concentrações foi atingindo no tempo de 48 à 72 horas, chegando a $1,1 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 16 °Plato, $1,3 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 18°Plato, $1,25 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 20 °Plato, $1,22 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 22°Plato e $1,17 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 24 °Plato (Figura 6.1).

Após a concentração máxima das leveduras, ocorreu imediatamente a fase de declínio celular ou lise celular, isso deve-se a deficiência de nutrientes ou até mesmo aos efeitos da alta concentração de etanol. Briggs et al. (2004) relataram que o aumento da concentração de adjunto pode reduzir o teor de nitrogênio solúvel e o nitrogênio amino livre, assim como algumas substâncias inorgânicas a um nível que o crescimento da levedura possa ser prejudicado. Com o acompanhamento do crescimento celular, não foi observado este problema, podendo-se entender que mesmo com um aumento expressivo da concentração, os componentes necessários para o crescimento celular não foram reduzidos a níveis que prejudicassem o desenvolvimento das leveduras. No entanto, interferiu na viabilidade celular, visto que, a mesma reduziu de acordo que a concentração do mosto foi aumentada. Pavlak et al. (2011) ressaltaram que o conteúdo mineral do mosto é um dos fatores que pode influenciar a viabilidade celular.

Figura 6.1 – Perfis de concentração células em suspensão (Cél/mL) (○) e de viabilidade celular (%) (■) nos seguintes mostos: (A) 16°P, (B) 18°P, (C) 20°P, (D) 22°P e (E) 24°P, em função do tempo (h), numa fermentação conduzida à 15°C.



Fonte: O autor.

Após as células atingirem o crescimento máximo, observou-se que se deu o início do processo de declínio ou lise celular, que de acordo com Boulton e Quain (2001), deve-se à depleção dos nutrientes ou até mesmo aos efeitos tóxicos do etanol. Como as amostras com maior concentração produzem uma maior quantidade de produtos (etanol e CO₂), explicasse o fato das amostras com maior concentração possuírem uma menor viabilidade celular no decorrer da fermentação, devido a esse efeito tóxico do etanol.

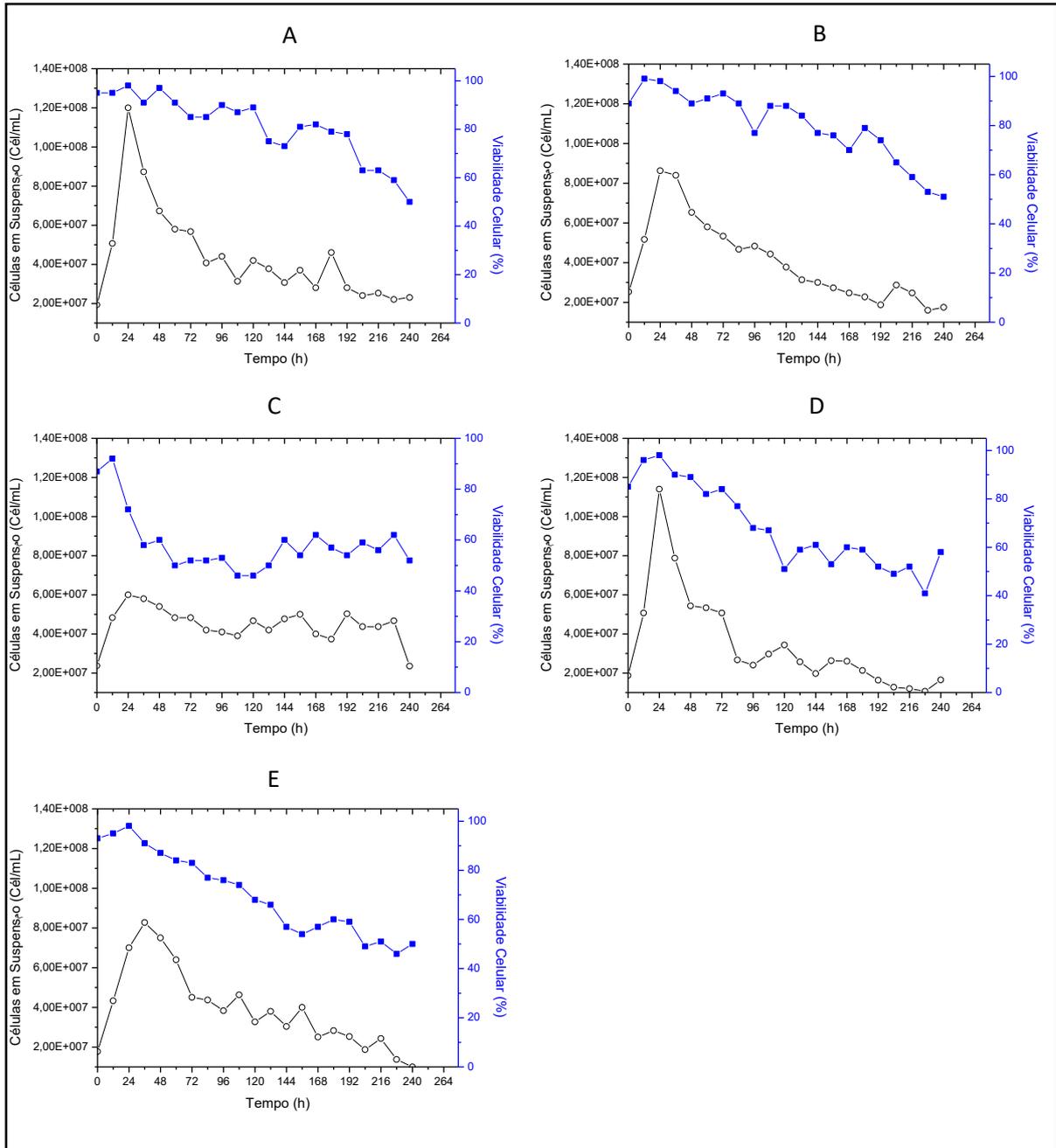
Os valores de viabilidade foram elevados ao longo de toda a fermentação conduzida à temperatura de 15 °C. Nas primeiras 72 h de fermentação dos mostos com 16, 18, 20, 22 e 24 °Plato, estes valores encontravam-se respectivamente nas seguintes faixas: 98 – 97%; 95 – 97%; 96 – 93%; 97 – 94% e 92 – 96% (Figura 6.1). Sendo que no final da fermentação (240 h), as porcentagens de células viáveis foram respectivamente: 94%; 84%; 91%; 78% e 72%. Tal decréscimo pode ser explicado devido à toxicidade do etanol, que é um dos principais fatores que causam instabilidade no processo fermentativo (MOREIRA et al., 2013), e também a redução de substrato disponível (CARVALHO e ZAMBIASI; 2011). Eblinger e Narzib (2012) relataram que as leveduras podem desenvolver um padrão ideal (viabilidade > 95%). Isso depende conforme Guido et al. (2004), do estado fisiológico que se refere não apenas a multiplicação, mas à sua atividade metabólica e ao meio onde se encontra.

Quanto a concentração de células viáveis em função do tempo na fermentação conduzida a 22 °C, como mostrado na Figura 6.2, observa-se, que assim como a fermentação conduzida a 15 °C, as leveduras também não precisaram de uma fase de adaptação.

A diferença desse perfil de fermentação, é que a concentração máxima celular foi atingida em menos tempo (entre 24 e 48 horas), chegando a $1,0 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 16 °Plato, $7,5 \times 10^7$ Cel/mL na concentração de 18 °Plato, $6,0 \times 10^7$ Cel/mL na concentração de 20 °Plato, $1,05 \times 10^8$ Cel/mL na concentração de 22 °Plato e $8,0 \times 10^7$ Cel/mL na concentração de 24 °Plato (Figura 6.2). Após isso, ocorreu a lise celular.

A diferença visivelmente entre as duas condições de fermentação (15 e 22 °C), foi no tempo em que se atingiu a concentração máxima de células em suspensão. Verifica-se que o aumento da temperatura de fermentação permite atingir a máxima concentração de células em suspensão em um menor tempo (entre 24 e 48 horas). Carvalho (2009); Engasser et al. (1981) e Marc et al. (1983) observaram que a diminuição da temperatura de fermentação diminui a velocidade inicial de crescimento, retarda o começo da floculação celular e diminui a velocidade desta floculação.

Figura 6.2 – Perfis de concentração células em suspensão (Cél/mL) (○) e de viabilidade celular (%) (■) nos seguintes mostos: (A) 16°P, (B) 18°P, (C) 20°P, (D) 22°P e (E) 24°P, em função do tempo (h), numa fermentação conduzida à 22°C.



Fonte: O autor.

Outra diferença está na concentração máxima celular atingida, onde na primeira condição se atingiu um maior número de células em todas as amostras, divergindo do que foi observado por Carvalho (2009) para leveduras *lager*. O que significa dizer que o aumento da temperatura de fermentação teve uma influência negativa no desenvolvimento das leveduras, o que também pode ser observado através dos perfis de viabilidade celular, onde, comparado com esses perfis com a fermentação conduzida a temperatura menor, tiveram uma performance bem inferior. Conforme Lima et al.(2009), a temperatura é indiscutivelmente um dos parâmetros mais importantes que afetam a fermentação, ela influencia no metabolismo da levedura e na produção de compostos voláteis.

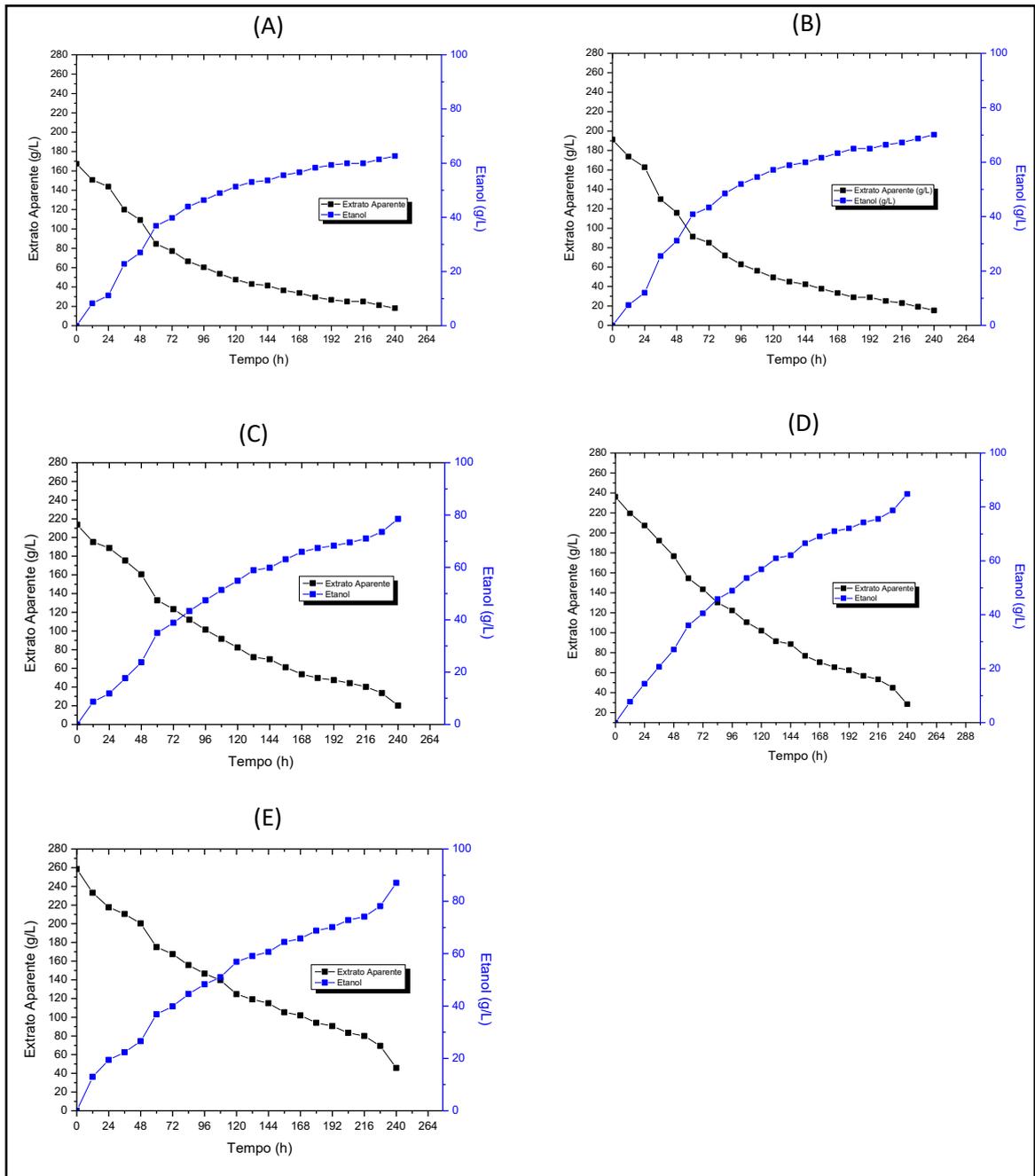
Os valores de viabilidade foram elevados ao longo de toda a fermentação conduzida à temperatura de 22 °C. Nas primeiras 48 h de fermentação dos mostos com 16, 18, 20, 22 e 24 °Brix, estes valores encontravam-se respectivamente nas seguintes faixas: 95 – 91%; 89 – 94%; 87 – 58%; 85 – 90% e 93 – 91% (Figura 6.2). Sendo que no final da fermentação (240 h), as porcentagens de células viáveis foram respectivamente: 50%; 51%; 52%; 58% e 50%. Segundo Fidelis, et al. (2016), temperaturas muito quentes ou muito frias conseguem reduzir o crescimento da levedura, existindo uma temperatura mínima e máxima para sua sobrevivência. O aumento gradativo da temperatura provoca uma elevação na velocidade das reações químicas e enzimáticas da levedura

6.3.2. Consumo de substrato x produção de etanol

Na Figura 6.3, o comportamento da fermentação conduzida a 15 °C, verificou-se ausência da fase lag (adaptação ao meio), mesmo com o meio muito concentrado (variando de 167,3 g/L até 258,6 g/L), visto que, o consumo de extrato e produção se deu de imediato na fermentação, ao contrário do observado por Carvalho (2009), onde nas primeiras horas de fermentação quase não houve consumo de substrato em mosto com contração alta (176,4 g/L). A medida que o processo fermentativo ocorre há um aumento da concentração de etanol à medida que a concentração de substrato diminui. Comparando os perfis de fermentação de cada concentração, pode-se observar que a concentração que mais produz etanol é a amostra E (24°Plato), como já era de se esperar, visto que maior a concentração de açúcares, maior a produção de etanol. Também foi o gráfico que possui o melhor perfil de fermentação, pois tem

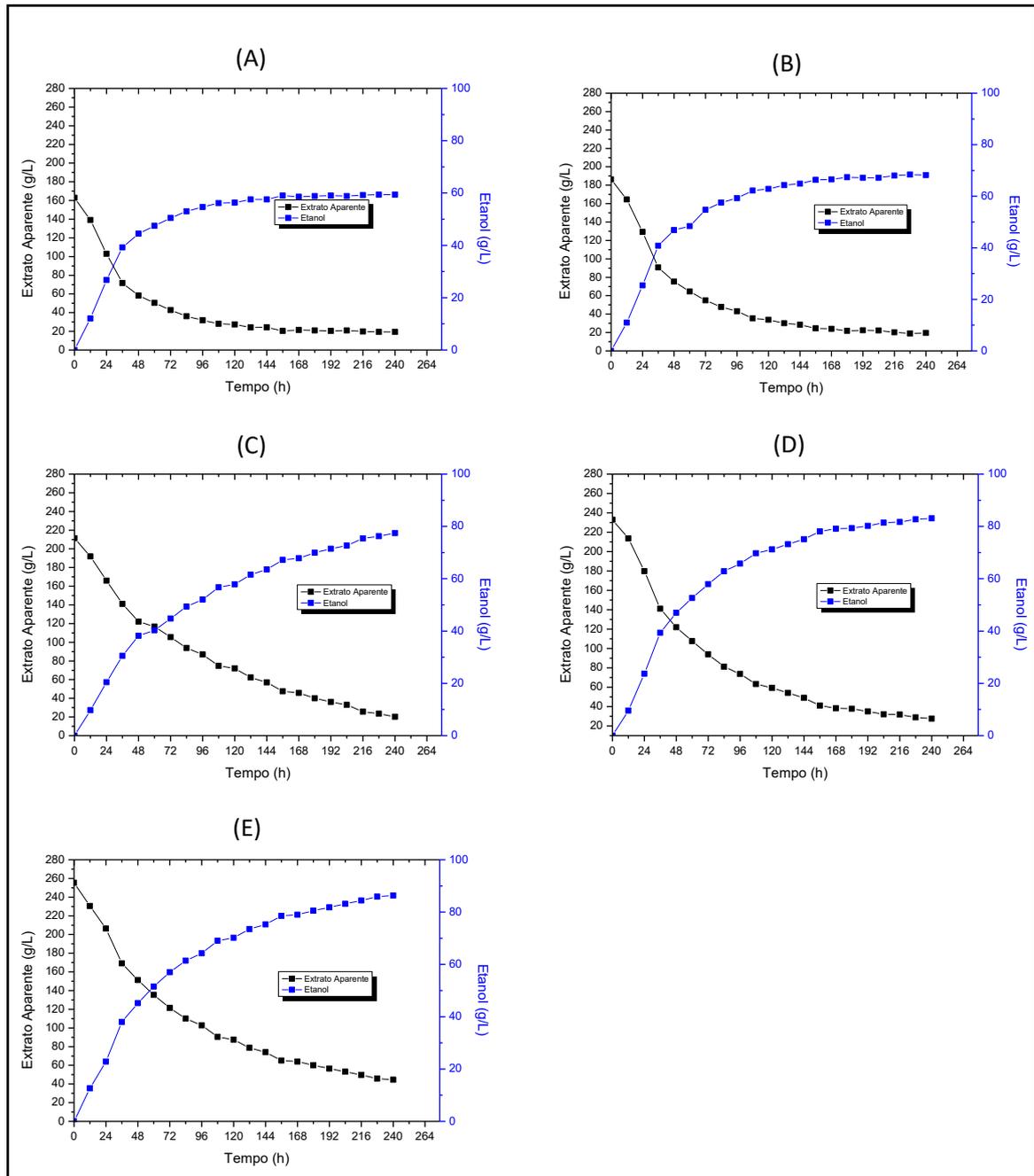
a maior queda de concentração de substrato e o maior aumento na concentração de etanol em um menor tempo.

Figura 6.3 – Perfis de concentração de substrato (g/L) (■) e de concentração de etanol (g/L) (■), em função do tempo, na fermentação conduzida a 15 °C.



Fonte: O autor.

Figura 6.4 – Perfis de concentração de substrato (g/L) (■) e de concentração de etanol (g/L) (■), em função do tempo, na fermentação conduzida a 22°C.



Fonte: O autor.

A Figura 6.4 mostra o comportamento da fermentação conduzida a 22 °C, onde mostra um comportamento bem parecido com a condição anterior (Figura 6.3). A Figura 6.4-E (24 °P), foi a que apresentou a maior angulação.

Essa maior angulação dos gráficos pode ser explicada por uma maior velocidade na queda de substrato, conseqüentemente, um maior aumento na formação de produto (etanol), evidenciando uma maior velocidade de consumo de substrato e formação de produto. Segundo Costa (2017) temperaturas mais elevadas aceleram o metabolismo fermentativo das leveduras. Então, visto isso, a amostra E, foi a que apresentou maior desempenho em relação a velocidade de conversão de substrato em produto.

6.3.3. Parâmetros fermentativos em escala laboratorial a 15 °C.

Com relação aos parâmetros fermentativos apresentados na Tabela 6.3, com a fermentação conduzida na temperatura de 15 °C, pode-se observar que a medida que a concentração inicial dos mostos aumenta, a quantidade de produto (etanol em % e g/L) no final da fermentação aumenta proporcionalmente. O mesmo ocorre com a Produtividade Volumétrica (Q_p), na qual verifica-se que quanto maior é a concentração inicial do mosto, maior será a produtividade volumétrica, sendo a amostra E a que apresentou maior valor de Q_p (0,34 g/L.h) e maior formação de etanol (11,03% e 78,16 g/L).

Em relação ao Fator de Conversão de Substrato em Produto ($Y_{p/s}$), as amostras não apresentaram diferença significativa, contudo, a amostra A foi a que apresentou maior valor (0,42 g/g). Este resultado foi superior ao rendimento ($Y_{p/s}$), próximo de 0,40 g/g, obtido por Dragone (2002), utilizando mostos concentrados. Vale ressaltar que esse valor de $Y_{p/s}$ nunca deve ser superior a 0,511, pois esse é o valor máximo que uma levedura *Saccharomyces cerevisiae* consegue converter açúcares em etanol.

O Grau Aparente de Fermentação (GAF) ou atenuação aparente aconteceu após 240 horas de fermentação em ambas amostras, mantendo a temperatura em 15 °C. O GAF de todas as amostras foi considerado muito bom. Sendo o valor na amostra A de 89,32%, na amostra B de 91,93%, na amostra C de 90,38%, na amostra D de 87,82% e na amostra E de 82,14%.

Tabela 6.3 - Valores dos parâmetros fermentativos numa fermentação conduzida à 15°C. Etanol (%v/v), Etanol (g/L), Produtividade Volumétrica – Qp (g/L.h), Fator de Conversão de Substrato em Produto – Yp/s (g/g) e Grau Aparente de Fermentação – GAF (%). Amostra A (16 °P), amostra B (18 °P), amostra C (20 °P), amostra D (22 °P) e amostra E (24 °P).

Amostra	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Yp/s (g/g)	GAF (%)
A	7,93 ^a ± 0,04	61,38 ^a ± 0,35	0,27 ^b ± 0,00	0,42 ^b ± 0,00	89,18 ^c ± 0,60
B	8,88 ^b ± 0,05	68,67 ^b ± 0,41	0,20 ^a ± 0,00	0,40 ^a ± 0,00	91,93 ^d ± 0,25
C	9,95 ^c ± 0,14	76,22 ^c ± 1,13	0,33 ^c ± 0,01	0,41 ^b ± 0,00	90,38 ^c ± 0,65
D	10,75 ^d ± 0,14	82,68 ^d ± 1,14	0,36 ^c ± 0,01	0,41 ^b ± 0,00	87,82 ^b ± 1,80
E	11,03 ^d ± 0,30	85,90 ^d ± 2,38	0,37 ^d ± 0,01	0,41 ^b ± 0,00	82,14 ^a ± 2,64

Notas: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores seguidos da mesma letra, na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor.

6.3.4. Parâmetros fermentativos em escala laboratorial a 22 °C.

Com relação aos parâmetros fermentativos da Tabela 6.4, onde a fermentação foi conduzida a 22 °C, pode-se observar que a fermentação teve o mesmo comportamento da fermentação conduzida a 15 °C, onde a que teve maiores valores foi a amostra E (24°P), isso para a concentração de etanol (10,94% e 85,90 g/L) e para o Qp (0,37 g/L.h). Em relação ao Yp/s, os valores foram bem próximos entre si (0,40 - 0,41 g/g), e não teve diferença significativa.

A atenuação aparente aconteceu após 240 horas (10 dias) de fermentação em ambas amostras, mantendo a temperatura em 22 °C. O GAF de todas as amostras foi considerado muito bom. Sendo esse valor na amostra A de 88,79%, na amostra B de 91,22%, na amostra C de 92,39%, na amostra D de 89,63% e na amostra E de 84,89%.

Comparando as duas temperaturas (de 15 e 22 °C) de fermentação em relação aos parâmetros fermentativos, verificou-se que os valores foram bastante semelhantes.

Tabela 6.4: Valores dos parâmetros fermentativos numa fermentação conduzida a 22 °C. Etanol (% v/v), Etanol (g/L), Produtividade Volumétrica – Qp (g/L.h), Fator de Conversão de Substrato em Produto – Yp/s (g/g) e Grau Aparente de Fermentação – GAF (%). Amostra A (16 °P), amostra B (18 °P), amostra C (20 °P), amostra D (22 °P) e amostra E (24 °P).

Amostra	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Yp/s (g/g)	GAF (%)
A	7,53 ^a ± 0,01	59,40 ^a ± 0,06	0,27 ^a ± 0,00	0,41 ^a ± 0,00	88,04 ^b ± 0,51
B	8,64 ^b ± 0,14	68,20 ^b ± 1,08	0,20 ^b ± 0,00	0,41 ^a ± 0,00	89,41 ^c ± 2,83
C	9,82 ^c ± 0,26	76,22 ^c ± 2,06	0,33 ^c ± 0,01	0,40 ^a ± 0,00	90,37 ^c ± 3,56
D	10,53 ^d ± 0,19	82,68 ^d ± 1,48	0,36 ^d ± 0,00	0,40 ^a ± 0,00	88,02 ^b ± 2,56
E	10,94 ^d ± 0,29	85,90 ^d ± 2,31	0,37 ^d ± 0,01	0,41 ^a ± 0,00	82,43 ^a ± 3,78

Notas: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores seguidos da mesma, na mesma coluna letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor.

6.4. Tratamento estatístico dos parâmetros fermentativos comparando as duas temperaturas de fermentação utilizada.

Os dados experimentais da fermentação nas duas temperaturas (de 15 e 22 °C) foram processados estatisticamente a fim de se avaliar à influência dos fatores estudados na resposta de Produção de Etanol (g/L), Produtividade Volumétrica em Etanol - Qp (g/L.h) e Fator de Conversão de Substrato em Produto – Yp/s (g/g).

Tabela 6.5: Tratamento estatístico dos valores dos parâmetros fermentativos na fermentação conduzida a 15 °C e 22 °C. Amostra A (16 °P), amostra B (18 °P), amostra C (20 °P), amostra D (22 °P) e amostra E (24 °P).

Amostra	Etanol (g/L)		Qp (g/L.h)		Yp/s (g/g)	
	15 °C	22 °C	15 °C	22 °C	15 °C	22 °C
A	61,38 ^b ± 0,35	59,40 ^a ± 0,06	0,26 ^a ± 0,00	0,27 ^b ± 0,00	0,42 ^a ± 0,00	0,41 ^a ± 0,00
B	68,67 ^a ± 0,41	68,20 ^a ± 1,08	0,30 ^a ± 0,00	0,20 ^a ± 0,00	0,40 ^a ± 0,00	0,41 ^a ± 0,00
C	73,53 ^a ± 1,13	76,22 ^a ± 2,06	0,31 ^a ± 0,01	0,33 ^a ± 0,01	0,41 ^a ± 0,00	0,40 ^a ± 0,00
D	78,74 ^a ± 1,14	82,68 ^b ± 1,48	0,33 ^a ± 0,01	0,36 ^b ± 0,00	0,41 ^a ± 0,001	0,40 ^a ± 0,00
E	78,16 ^a ± 2,38	85,90 ^b ± 2,31	0,34 ^a ± 0,01	0,37 ^b ± 0,01	0,41 ^a ± 0,001	0,41 ^a ± 0,00

Notas: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores seguidos da mesma letra, na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor.

A Tabela 6.5 mostra a diferença significativa entre as duas temperaturas de fermentação em relação a alguns parâmetros. Comparando a produção de etanol, verifica-se que na amostra A (16 °P), teve diferença significativa entre a fermentação conduzida na menor temperatura (15 °C) e a fermentação conduzida na temperatura maior (22 °C), sendo que a fermentação conduzida na menor temperatura obteve maior valor, as amostras B e C (18 e 20 °P, respectivamente), não apresentaram diferença significativa entre a fermentação conduzida nas duas temperaturas e as amostras D e E (22 e 24 °P, respectivamente), tiveram diferença significativa, sendo que a maior temperatura obteve valores maiores.

Em relação a produtividade volumétrica em etanol (Qp), observou-se que as amostras A, D e E apresentaram diferença significativa entre si, sendo que a fermentação conduzida em temperatura maior (22 °C) obteve maiores valores. Em relação ao fator de conversão de substrato em produto (Yp/s), apenas a amostra B obteve-se diferença significativa entre as temperaturas de fermentação, sendo que na fermentação conduzida na temperatura de 22°C obteve-se um valor maior.

Com a análise dos dados pôde-se comprovar que o aumento da temperatura de fermentação de 15 para 22 °C favoreceu um aumento na produtividade. D'Amore *et al.* (1991), utilizando mostos de 25 °P em escala industrial (1600 L), observaram um aumento na

velocidade e na extensão da fermentação quando aumentaram a temperatura de fermentação de 14 para 21 °C. Comportamento semelhante foi observado por Dragone *et al.* (2003) ao observarem a fermentação de mosto de alta densidade em escala piloto nas temperaturas de 10 e 15 °C.

6.5. Cinética da fermentação

6.5.1. Velocidades específicas máximas de crescimento celular.

Na Tabela 6.6, observa-se que o valor máximo da velocidade específica de crescimento celular ($0,05538 \text{ h}^{-1}$) foi obtido nas condições de menor concentração inicial de açúcares (16 °P) e maior temperatura de fermentação (22 °C), esse valor foi encontrado no tempo de fermentação de 12 horas. Utilizando a velocidade específica máxima de crescimento das células em suspensão em mosto concentrado com adição de mel ($0,05538 \text{ h}^{-1}$), pode-se calcular o tempo de geração da levedura ($t_g = 0,693 / \mu_{x \text{ Max}} = 12,51 \text{ h}$). Esse valor é inferior ao encontrado por Carvalho (2009) (17,77 h), para mosto concentrado com banana como adjunto (17,5 °P), utilizando uma levedura tipo *lager*, numa fermentação conduzida à 15 °C.

As variações das velocidades específicas de crescimento em função do tempo de fermentação para cada ensaio, encontra-se detalhada no Apêndice 1.

Tabela 6.6 - Velocidades específicas máximas de crescimento celular para ensaios de fermentação conduzidas nas temperaturas de 15 °C e 22 °C.

Ensaio	Variável	μ_x máximo (h^{-1})	μ_x máximo (h^{-1})
	Concentração (°Plato)	obtido na fermentação a 15 °C	obtido na fermentação a 22 °C
A	16	0,05156	0,05538
B	18	0,04839	0,03822
C	20	0,02778	0,03981
D	22	0,02443	0,04874
E	24	0,02874	0,04866

Fonte: O autor.

6.5.2. Velocidades específicas máximas de consumo de extrato aparente.

Na Tabela 6.7, observa-se que o valor máximo da velocidade específica de consumo de extrato aparente ($0,74125 \text{ h}^{-1}$) foi obtido na amostra E (24 °P) e na maior temperatura de fermentação (22 °C), esse valor foi encontrado no tempo de fermentação de 12 horas. As variações das velocidades específicas de consumo em função do tempo de fermentação para cada ensaio, encontra-se detalhada no Apêndice 1.

Tabela 6.7 - Velocidades específicas máximas de consumo de extrato aparente para ensaios de fermentação conduzidas nas temperaturas de 15 °C e 22 °C.

Ensaio	Variável Concentração (°Plato)	μs máximo (h^{-1}) obtido na fermentação a 15 °C	μs máximo (h^{-1}) obtido na fermentação a 22 °C
A	16	0,48504	0,50111
B	18	0,53053	0,69037
C	20	0,45491	0,41983
D	22	0,29210	0,70344
E	24	0,74125	0,61373

Fonte: O autor.

6.5.3. Velocidades específicas máximas de formação de produto.

Na Tabela 6.8, observa-se que o valor máximo da velocidade específica de formação de produto ($0,37700 \text{ h}^{-1}$) foi obtido na amostra E (24 °P), que é amostra com maior concentração inicial de substrato, e na maior temperatura de fermentação (22 °C), esse valor foi encontrado no tempo de fermentação de 12 horas. As variações das velocidades específicas de formação de produto em função do tempo de fermentação para cada ensaio, encontra-se detalhada no Apêndice 1.

Tabela 6.8 - Velocidades específicas máximas de formação de produto para ensaios de fermentação conduzidas nas temperaturas de 15 °C e 22 °C.

Ensaio	Variável	μ_p máximo (h^{-1})	μ_p máximo (h^{-1})
	Concentração (°Plato)	obtido na fermentação a 15 °C	obtido na fermentação a 22 °C
A	16	0,20488	0,25510
B	18	0,21334	0,28775
C	20	0,21278	0,20921
D	22	0,14651	0,29143
E	24	0,37700	0,31220

Fonte: O autor.

6.6. Caracterização das cervejas

As amostras de cerveja com mosto de alta densidade com adjunto de mel foram caracterizadas físico-quimicamente de acordo com os dados apresentados na Tabela 6.9.

Todas as amostras diferiram entre si em relação ao seu teor de sólidos solúveis. Sendo que aumentaram gradativamente de acordo com o aumento da concentração inicial do mosto. A proteína bruta das amostras de cerveja variou entre 0,22 e 0,37% (Tabela 6.9). Segundo Briggs *et al.* (2004) o conteúdo de proteína de uma cerveja varia de 0,11 a 0,63%. Então, os valores encontrados estão todos dentro de faixa apresentada pelos autores. Ressaltando que as amostras com conteúdo maior de mel adicionado apresentaram um valor maior de conteúdo proteico.

A acidez total das amostras variaram entre 43,06 e 59,55 meq/Kg (Tabela 6.9), e diferiram significativamente entre as demais. A acidez da cerveja aumentou de forma proporcional com o aumento da concentração inicial do mosto. Em relação a concentração de açúcares totais, as amostras não tiveram diferença significativa entre si, apenas a amostras D e E que apresentaram um valor maior (Tabela 6.9).

Tabela 6.9 - Caracterização físico-química das amostras de cerveja a partir do mosto concentrado com mel depois de fermentadas.

PARAMÊTRO	A	B	C	D	E
Sólidos	7,57 ^a ±	8,23 ^b ±	9,23 ^c ±	10,57 ^d ±	12,33 ^e ±
Solúveis (°Brix)	0,057	0,152	0,115	0,305	0,416
Proteína Bruta	0,24 ^b ±	0,22 ^a ±	0,25 ^b ±	0,37 ^c ±	0,37 ^c ±
(g/100g)	0,148	0,085	0,636	0,396	0,820
Acidez Total	43,06 ^a ±	48,29 ^b ±	55,06 ^c ±	58,24 ^d ±	59,55 ^e ±
(meq/kg)	0,749	2,135	0,793	0,000	0,611
Açúcares Totais	42,51 ^a ±	42,50 ^a ±	42,59 ^a ±	42,79 ^b ±	43,51 ^c ±
(g/100g)	0,529	0,156	0,452	0,377	0,565
pH	4,15 ^b ±	4,08 ^a ±	4,01 ^a ±	4,05 ^a ±	4,05 ^a ±
(adimensional)	0,063	0,014	0,141	0,077	0,056
Cinzas (%)	0,07 ^a ±	0,09 ^b ±	0,11 ^c ±	0,12 ^c ±	0,14 ^d ±
	0,038	0,014	0,002	0,020	0,004
Cor (EBC)	9,91 ^a ±	9,72 ^a ±	10,28 ^b ±	15,02 ^c ±	15,52 ^d ±
	1,041	1,038	0,624	0,900	0,196

Notas: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores seguidos da mesma letra, na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor.

Os pH das amostras não diferiram entre si, apenas a amostra A apresentou diferença significativa para as demais amostras, e ficaram na faixa de 4,01 - 4,15 (Tabela 6.9). Taylor e Organ (2009) relatam que o pH da cerveja está na faixa de 3,8 – 4,3 e que os níveis de acidez podem variar de acordo com a cepa de levedura utilizada. Araújo (2017) encontrou um pH de 4,3 para sua cerveja *Ale*. Todos os resultados encontrados nesse trabalho se encontram em concordância com os autores. Os teores de cinzas das amostras diferiram significativamente entre si e aumentaram a medida que aumentava a concentração do mosto.

As amostras de cerveja produzidas com adjunto de mel enquadraram-se na categoria de cerveja clara, uma vez que, a mesma apresentou coloração entre 9,72 e 15,52 unidades EBC (Tabela 6.9) e de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2009), a cerveja é considerada como clara quando possuir a cor correspondente a menos de 20 unidades EBC. Conforme Briggs et al. (2004), a cor da cerveja comumente está relacionada à melanina e ao caramelo

presentes no malte. No entanto, observou-se que a adição do mel também influenciou na cor da cerveja, visto que, as amostras diferiram estatisticamente entre si, aumentando gradativamente a cor da cerveja de modo que a concentração inicial do mosto aumentava.

6.7. Análise sensorial das cervejas

As cervejas com mosto de alta densidade com adjunto de mel de abelha foram produzidas em escala piloto da Micro Cervejaria do Laboratório de Fermentação da UEFS e avaliadas sensorialmente através de testes de consumidor. Para isto realizou-se testes de preferência do tipo comparação pareada e teste de aceitação com escala hedônica estruturada de nove pontos. Nestes testes foram avaliadas apenas a preferência e aceitação global, ou seja, foram avaliadas as cervejas de forma global.

A análise sensorial foi realizada com as duas amostras que obtiveram melhores resultados. A amostra A (16 °P), que apresentou melhores valores de Fator de Conversão de Substrato em Produto (Y_p/s) e a amostra E (24 °P) que apresentou melhores valores de Produção de Etanol e de Produtividade Volumétrica (Q_p). A temperatura de fermentação de 22 °C foi a que obteve-se melhores resultados.

Na realização dos testes de preferência do tipo comparação pareada, observou-se que a cerveja elaborada a partir do mosto com 16 °Plato, foi a preferida entre 34 dos 60 provadores, em relação à cerveja produzida com mosto concentrado de 24 °Plato, ou seja, a cerveja com mosto de 16 °P teve 57% da preferência dos provadores, enquanto a cerveja com mosto de 24 °P, 43% da preferência dos provadores, conforme Figura 6.5.

Utilizando a tabela para teste de comparação pareada-preferência (bicaudal) de Meilgaard et al. (1991), para um nível de significância de 5%, verifica-se que as duas amostras não apresentaram diferença significativa entre si (APÊNDICE 2).

Figura 6.5 – Resultado do teste de comparação pareada entre as amostras.



Fonte: O Autor.

Os testes de aceitação foram realizados com o objetivo de avaliar se os consumidores gostaram ou desgostaram da cerveja concentrada com mel. Para isso, utilizou-se uma escala hedônica estruturada. Os provadores receberam as amostras codificadas, com um número de três dígitos, e foi solicitado aos provadores que se avaliasse a cerveja com relação aos parâmetros, cor, sabor, espuma e impressão global das amostras de cerveja. Os resultados da escala hedônica determinados por meio de análise de variância (ANOVA) (Tabela 6.10), que considera conjuntamente as avaliações de todos os provadores e assume que todos apresentam o mesmo comportamento, ou seja, a ANOVA leva em consideração a média do grupo de provadores que julgaram as amostras de cerveja. Os resultados das análises de variância com os testes de F para a determinação da aceitação das amostras experimentais (amostra A e amostra E), se encontram na Tabela 6.10.

Tabela 6.10 - Resumo da ANOVA dos resultados do teste de aceitação em escala hedônica para as amostras de cerveja.

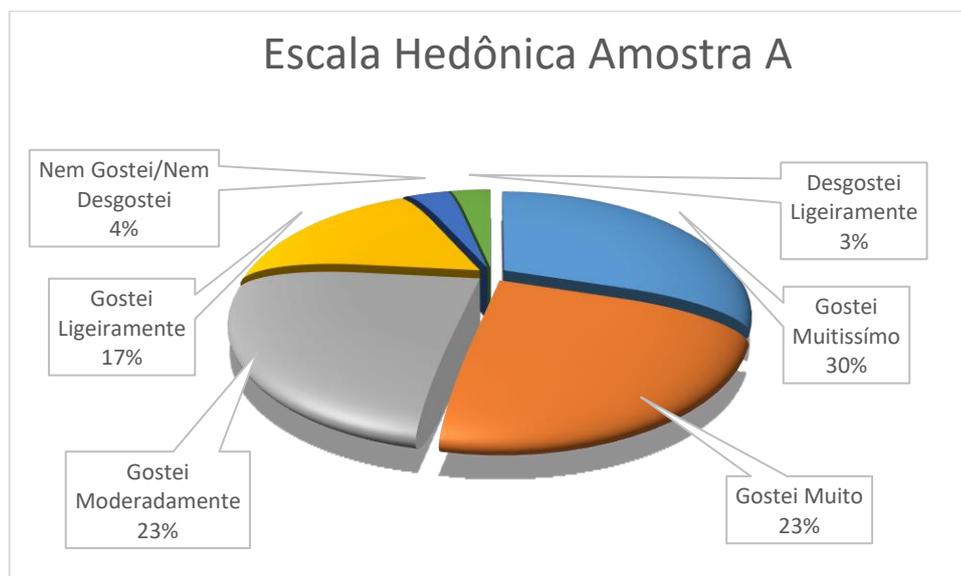
Fonte de Variação	GL	SQ	SQM	F _{cal.}
Amostra (a)	1,00	1,63	1,63	1,17*
Provedor (p)	59,00	148,37	2,51	1,80
Resíduo (r)	59,00	82,37	1,40	-
Total	119,00	232,37	-	-

*Não significativo a 5% da significância (F calculado < F tabelado); F tabelado = 2,83.

Fonte: O Autor.

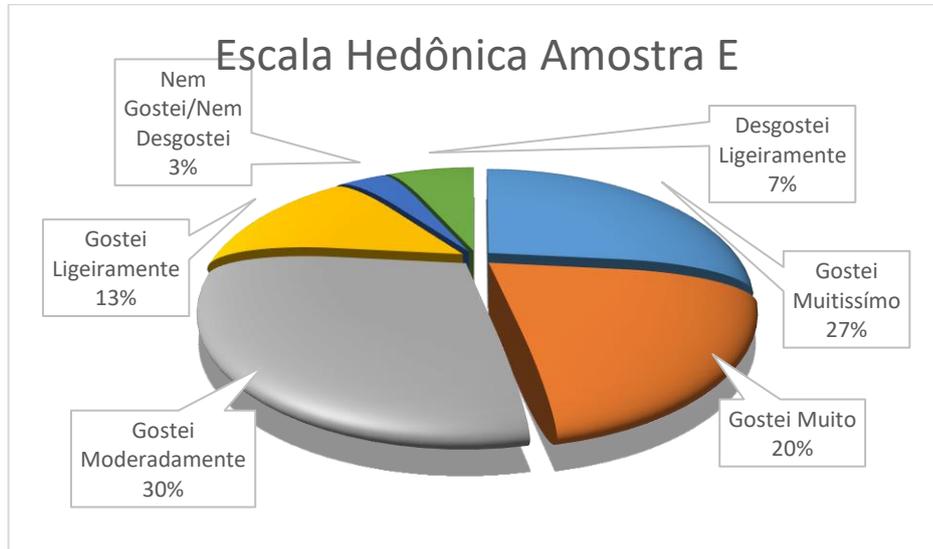
Pôde-se observar que o grupo que avaliou a amostra A, manifestou sua aceitação média na escala hedônica (média = 7,5) entre “gostei muito” e “gostei moderadamente”, bem próximo a aceitação manifestada para a amostra E (média = 7,27), também entre “gostei muito” e “gostei moderadamente” (Figura 6.6 e 6.7).

Figura 6.6 – Resultado do teste em escala hedônica para a amostra A (16 °P).



Fonte: O Autor.

Figura 6.7 – Resultado do teste em escala hedônica para a amostra E (24 °P).



Fonte: O Autor.

Portanto, após análise estatística realizada para as duas amostras, e estando os valores obtidos entre as amostras muito próximos entre si, foi verificado que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) quanto ao grau de aceitação das amostras. Pode-se afirmar que as cervejas elaboradas com mosto concentrado utilizando mel de abelha como adjunto tiveram boa aceitação, demonstrando sensorialmente ser viável produzir as cervejas com mosto de alta densidade (16 e 24 °P).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O mel é uma matéria prima que possui, características apreciáveis para sua utilização como adjunto cervejeiro. O mel utilizado em questão apresentou todas suas características físico-químicas de acordo com o estabelecido com a legislação em vigor. Dos parâmetros avaliados destaca-se sua concentração de açúcares. O mosto cervejeiro também apresentou características semelhantes ao que foi estudado por outros autores.

Quanto a resposta da levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, obteve-se bom desempenho fermentativo em todas as concentrações de mosto concentrado com mel. Comparando as duas temperaturas de fermentação estudadas (15 e 22 °C), pode-se verificar que na temperatura de 22 °C a leveduras levaram um tempo menor para atingir o crescimento máximo celular, no entanto, a viabilidade celular foi menor nessa temperatura.

A formação de produto e consumo de substrato foi em maior quantidade na maior concentração inicial de mosto (24 °P). Comparando as temperaturas, em 22 °C, esse perfil de consumo de substrato e produção de etanol foi melhor.

Com a análise dos parâmetros fermentativos, confirmou-se que o aumento da concentração inicial do mosto, aumenta a concentração de etanol e a produtividade volumétrica. Quanto ao Y_p/s , as amostras não diferiram entre si e o GAF foi satisfatório para todas as amostras. Observou-se também que o aumento de temperatura da fermentação de 15 para 22 °C, aumentou a produtividade.

O valor máximo da velocidade específica de crescimento celular ($\mu_x = 0,05538 \text{ h}^{-1}$) foi obtido nas condições de menor concentração inicial de açúcares (16 °P) e maior temperatura de fermentação (22 °C), esse valor foi encontrado no tempo de fermentação de 12 horas, e o tempo de geração da levedura foi de ($T_g = 12,51 \text{ h}$).

Com a análise sensorial, pôde-se confirmar o potencial do mel como adjunto de malte e da técnica utilizando mosto com alta densidade, visto que, as amostras avaliadas apresentaram boa aceitação e sem diferença significativa, sendo possível a utilização dessa técnica com o objetivo de aumentar o rendimento.

Diante dos benefícios supracitados, é possível produzir uma cerveja *Ale* utilizando a tecnologia de mosto com alta densidade, e o mel do semiárido baiano como adjunto de malte.

8. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Diante do trabalho desenvolvido, percebeu-se que é possível a utilização do mel do semiárido baiano como adjunto de malte na elaboração de cervejas *High Gravity*. Portanto, seria de grande importância a continuidade e aprofundamento das pesquisas com essa tecnologia, visando melhorias no processo.

Foram testadas apenas fermentações utilizando mostos com alta densidades (16 – 24 °P), seria interessante também ser feito uma fermentação com mosto convencional (11-12 °P) com o objetivo de comparação. Outra melhoria interessante, poderia ser o teste com suplementos na fermentação, com o objetivo de melhorar o perfil fermentativo. Ou mesmo, a utilização de outras cepas de leveduras, que sejam mais resistentes a esse tipo de cerveja.

Seria também interessante a realização de uma análise sensorial através da técnica de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

9. REFERÊNCIAS

ABREU, J.; GONZÁLEZ, J. Y. R. Mejoramiento de la Flocculación de Cepas de Levadura Cervecera. **Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v. 8, n. 2, p.22-30, 2008.

ADEMOLA, O.O.; YUSHIR, R.M.; BALAKRISHNA, P. Effects of fermentation temperature on the composition of beer volatile compounds, organoleptic quality and spent yeast density. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 2, 2011.

AGUERO, S.D.; GARCIA, S.D.; CATALAN, J.S. Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades. **Nutrición Hospitalaria**, v.32, n.1, 2015.

AYORINDE, F. O.; GELAIN, S. V.; JOHNSON, J. H. J.; WAN, L. W. Analysis of some commercial polysorbate formulations using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 14, p. 2116 - 2124, 2000.

ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja. In: **Tecnologia de Bebidas**. VENTURINI FILHO, W. G. ed. São Paulo: Edgard Blucher, p. 347-380,2005.

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia: alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, v.5, 1983, 243p.

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado cervejeiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n. 2, p.121-128, 2003. Campinas, 2003.

ARAÚJO, G. S. Elaboração de uma cerveja *ALE* utilizando melão de caroá [*sicana odorífera (vell.) naudim*] como adjunto do malte. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal da Bahia. 2016.

ASBC, AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. **Methods os Analysis of the American Society of Brewing Chemists**. 8th Ver Ed. Minnesota: The Technical Committee and the Editorial Committee of the ASBC, 1996.

AZEREDO, M. A. A.; AZEREDO, L. da C.; DAMASCENO, J. G. Características físico-químicas dos méis do município de São Fidélis - RJ. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1 , p. 3-7, 1999.

BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation Technologies from sugar and starch feedstocks. **Biotechnology Advances**, v.26, p. 89-105, 2008.

BAMFORTH C. **BEER: Tap Into The Art of Science of Brewing**. 2. ed. Oxford: University Press, 2003.

BAMFORTH, C.W.; LENTINI, A. The Flavor Instability of beer. BAMFORTH, C.W (Ed.). **Beer: A Quality Perspective**. San Diego: Academic Press, 2009.

BÁREZ, J. A. G.; GARCIA-VILLANOVA, R. J.; GARCIA, S. E.; PALÁ, T. R.; PARAMÁS, A. M. G.; SÁNCHEZ, J. S. Geographical discrimination of honeys through the employment of sugar patterns and common chemical quality parameters. *European Food Research and Technology*, v. 210, p. 437-444, 2000.

BARROS, N., B., SCARMINIO, I. S.; BRUNS R. E., **Planejamento e Otimização de Experimentos**, Campinas: Unicamp, São Paulo, p.278,1995.

BELETI, M.A.; DUARTE, F.; ENDRES, J.G.K. A temperatura no desenvolvimento da atividade das enzimas (1-3, 1-4)- β -glucanases e degradação de β -glucanos durante a malteação. **Ciência Rural**, v. 42, n. 3, 2012.

BLEIER, B. et al. *Craft Beer Production*. University of Pennsylvania. Filadélfia: editor, 2013.

BLIECK, M.; TOYE, G.; DUMORTIER, F.; VERSTREPEN, K.J.; DELVAUX, F.R.; THEVELEIN, J.M.; DIJCK, P.V. Isolation and Characterization of Brewer's Yeast Variants with Improved Fermentation Performance under High-Gravity Conditions. **Appl Environ Microbiol**, v. 73, p. 815-824, 2007.

BOFFILL, Y.; GALLARDO, R.; AGUILAR, I. Ventajas de la producción de cerveza a partir de malta de sorgo. **Tecnología Química**, v. 34, n. 3, 2014.

BOFFILL, Y.; GALLARDO, R. AGUILAR, IRENA. Ventajas de la producción de cerveza a partir de malta de sorgo. Revisión bibliográfica. **Tecnología Química**, v 34, n^o 3, Santiago, 2014.

BOGDANOV, S.; MARTIN, P.; LULLMAN, C. Harmonized methods of the European honey commission. *Apidologie*, p. 1-59, 1997.

BOKULICH, N.; BAMFORH, C.W. The microbiology of malting and brewing. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.77, p.157-172, 2013.

BORTOLI, D. A. S.; SANTOS, F.; STOCCO, N. M.; ORELLI A. J.; TOM, A.; NEME, F. F.; NASCIMENTO, D. D. Leveduras e produção de cervejas – Revisão. **Bioenergia em revista: diálogos**, ano 3, n. 1, p. 45-58, 2013.

BOULTON, C.; QUAIN. D. *Brewing Yeast & fermentation*. London: Blackwell Publishing, 2001, 66p.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for Experimenters. An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building**. New York: John Wiley and Sons Inc, 1978. 653 p.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/anexo intrnorm11.htm](http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/anexo_intrnorm11.htm)>. Acesso em: jul. 2017.

BRAVI, E.; BENEDETTI, P.; MARCONI, O.; PERRETTI, G. Determination of free fatty acids in beer wort. **Food Chemistry**, v. 151, p. 374-378, 2014.

BRIGGS, M., FUNGE-SMITH, S., SUBASINGHE, R., PHILLIPS, M. (2004) **Introductions and movement of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in Asia and the Pacific**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific. RAP Publication 2004.

CARBONELL, T. J.; SENDRA S. J. M.; Propriedades nutritivas y funcionales de la cerceza. **Cerveza e Salud**, v. 161, p. 16-20, 2001.

CARNEIRO, J. D. S.; SILVA, C. H. O.; MININ, V. P. R. Análise conjunta de fatores. In: MININ, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora. UFV, 2006. Cap. 6, p. 127-172.

CARILLO MAGANA, F.A. Meliponicultura: el mundo de las abejas nativas de Yucatán. Mérida, México, 1998

CARVALHO, G. B. M.; DRAGONE, G.; BENTO, C. V.; ALMEIDA e SILVA, J. B. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1^o Parte - As leveduras. **Revista Analytica**, v.25, p.36-42, 2006.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 3^o parte – A maturação. **Revista Analytica**, n. 26, p. 46-54, 2007.

CARVALHO, G. B. M. Obtenção de cerveja usando banana como adjunto e aromatizante. **Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial. Área de Concentração :Conversão de Biomassa)** – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. 2009.

CARVALHO, D. S.; ZAMBIAZI, R. C. Avaliação de cerveja Pilsen pelo uso de diferentes concentrações de *Saccharomyces cerevisiae*. **Alim. Nutr**, v. 22, n. 3, p. 351-357, 2011.

CASEY, G. P.; MAGNUS, C. A.; INGLEDEW, W. M. High gravity brewing: Nutrient enhanced production of high concentrations of ethanol by brewing yeast. **Biotechnology Letters**, v. 5, n. 6, p. 429-434, 1983.

CEREDA, M.P. Cervejas. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e Bebidas Produzidos por Fermentação**; São Paulo, Edgard Blücher, p. 3-78, 1983.

CERVBRASIL. **Associação Brasileira da Indústria de Cerveja**. Mercado cervejeiro. Disponível em: < http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/mercado-cervejeiro/> Acessado em: Jan. de 2019.

CORAZZA, M.L.; RODRIGUES, D.G.; NOZAKI, J. Preparação e Caracterização de Vinho de Laranja. *Química Nova*, v. 24, n. 4, p.449-452, 2001.

CORREIA, S.; UDEN, V. Temperature profiles oh etanol tolerance: effects of etanol on the minimum and maximum temperatures for growth of the yeast and *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces fragilis*. **Biotechnology**, n. 25, p. 1665-1667, 1983.

COZZOLINO, D.; ROUMELIOTIS, D.; EGLINTON, J.K. The role of total lipids and fatty acids profile on the water uptake of barley grain during steeping. **Food Chemistry**, v. 151, p. 231-235, 2014.

CODEX, Revised Codex Standard for Honey. **CODEX STAN 12-1981**. Codex Alimentarius Commission. FAO/OMS, 2001, 03 de Agosto de 2009. Disponível em http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=en. Acesso em 03 de Agosto de 2018.

COSTA, L. M. R. Produção de cerveja artesanal pela fermentação de uma levedura da Jabuticaba: Análise da cinética local de metabólitos voláteis e dos efeitos das variáveis no processo. **Dissertação de Mestrado – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE**, 2017.

CRANE, E. **O livro do mel**. 2ª edição. São Paulo: Nobel, 1985.

CRUZ, J. M. M. Cerveja. In: FONSECA, M. M.; TEIXEIRA, J. A. **Reactores Biológicos**. Lisboa/Porto: Lidel, 2007. p. 277-305.

DAMORE, T.; CELOTTO, G.; STEWART, G.G. Advances in the fermentation of high gravity wort. In: 23RD EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 1991, Lisboa.

DEMIATE, I. M.; WOSIACKI, G.; CZEWSNIAK, C.; NOGUEIRA, A. Analysis of total and reducing sugar in foods. A comparative study between colorimetric and titration techniques. **Agrarian Science and Engineering**, v. 8, n. 1, p. 65-78, 2002.

DIAS, J. S. et al. **Caracterização Físico-química de Amostras de Mel**. UNOPAR. *Cient. Exatas Tecnol.*, Londrina, v. 8, n. 1, p. 19-22, Nov. 2009.

DOWHANICK, T. M. Levadura – cepas y técnicas de manejo. In: KLIMOVITZ, R. **El cervecero en la práctica**. 3rd ed. Minnesota: Master Brewers Association of Americas, 2002.

DRAGONE, G. Estudo cinético do processo fermentativo de produção de cervejas em mostos concentrados. 2002. 111p. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) Departamento de Biotecnologia, FAENQUIL, Lorena, 2002.**

DRAGONE, G.; SILVA, D.P.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; LIMA, U.A. Improvement of the ethanol productivity in a high gravity brewing at pilot plant scale. **Biotechnology Letters**, v.25, p. 1171-1174, 2003.

DRAGONE, G.; ALMEIDA e SILVA, J.B. Produção de cerveja pelo sistema contínuo. In: VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010b, p.51-67.

DRAGONE, G.; MUSSATTO, S. I.; BATISTA, J. A. S. Use of concentrated worts for high gravity brewing by continuous process: new tendencies for the productivity increase. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 27, 2007.

DUBOIS. M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH. F, Colorimetric **Method for Determination of sugars and Related Substances, Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

EBC - EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica**. 5.ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 2005.

EBLINGER, H.; NARZIB, L. Beer. In: Encyclopedia of Industry Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2012.

EHRHARDT, P.; SASSEN, H. **Fermentação**. Vassouras: Senai – DR/RJ, 1995. 37p.

EMBRAPA. Sistemas de Produção: Produção de Mel. Embrapa Meio-Norte. ISSN 1678-8818 **Versão Eletrônica**, Jul/2003. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/territorio_sisal/arvore/CONT000fckg3dhh02wx5eo0a2ndxy0opz78w.html> Acesso em 8 de Abril de 2018.

ENDRES, J.G.K.; WIETHOLTER, P.; PATUSSI, S.B.; MINELLA, E.; IORCZESKI, E.J.; CAIERAO, E. Desenvolvimento de populações duplo-haplóides de cevada cervejeira associadas à atividade das enzimas (1-3, 1-4)- β -glucanases. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, 2011.

EVANGELISTA-RODRIGUES, A.; SILVA, E. M. S. da; BEZERRA, E. M. F. Análises físico-químicas de méis de abelhas *Apis mellifera* e *Melipona scutellaris*. Disponível em: <http://www.agroline.com.br/agrociencia/pdf>>. Acesso: Em julho de 2017.

FEISTLER, O. 2014. “Apostila Operador Cervejeiro-AMBEV”. Porto Alegre.

FIDALGO, J. A revolução invisível. Revista Nestlé Bio nutrição e saúde. ano 6, n. 8, jun. 2013, São Paulo, ISSN 2176-8463, p. 42-45.

- FIDELIS, E.; FERNANDO, L.; PRAXEDES, M.; LIMA, M. GABRIEL, P.; SILVA, V. **Metabolismo**. Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Engenharia Química, Pernambuco, 2016.
- FLORIANI, F. P. R. Produção de Cerveja - Revisão. **Agrogeoambiental**, 2009.
- GLEITER, R. A.; HORN, H.; ISENGARD, H-D. Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. *Food Chemistry*, v. 96, n. 3, p. 441-445, 2006.
- GOMES, T. M. C. Produção de Hidromel: efeito das condições de fermentação. Master Thesis, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 2010.
- GUIDO, L. F.; RODRIGUES, P.G.; RODRIGUES, J.A.; CONÇALVES, C.R.; BARROS, A.A. The Impact of the Physiological Condition of the Pitching Yeast on Beer Flavour Stability: An Industrial Approach, *Food Chemistry*, v. 87, p. 187–193, 2004.
- GUIMARAES, P.M.R.; VIRTANEN, H.; LONDESBOROUGH, J. Direct evidence that maltose transport activity is affected by lipid composition of brewer's yeast. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 112, p. 203-209, 2006.
- GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; FARIA, J. A.; CRUZ, A. G. Characterization of Brazilian *lager* and brown *ale* beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. **Science of food and Agriculture**, v.91, p. 563-571, 2010.
- HARRISON, M. A. Beer/Brewing. In: SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of Microbiology**. 3 ed. Philadelphia: Elsevier, p. 23-33, 2009.
- HENDERSON, C.M.; CONTRERAS, M.L.; JIRANEK, V.; LONGO, M.L.; BLOCO, D.E. Ethanol Production and Maximum Cell Growth Are Highly Correlated with Membrane Lipid Composition during Fermentation as Determined by Lipidomic Analysis of 22 *Saccharomyces cerevisiae* Strains. **Applied and Environmental Microbiology**, n. 79, 2013.
- HENDERSON, C.M.; BLOCO, D.E. Examining the Role of Membrane Lipid Composition in Determining the Ethanol Tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 2966-2972, 2014.
- HISS, H. Cinética de processos fermentativos In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.R (Coord.) **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. p.93-122.
- HOUGH, J. S. **Biotecnología de la Cerveza y de la Malta**. Zaragoza: Acribia, p. 194, 1990.
- HORN, H. Méis Brasileiros: resultados de análises físico-químicas e palinológicas. In: XI Congresso Brasileiro de Apicultura, Teresina, PI, 1996. p. 403-429.
- IAL – Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018p.

- ILHA, E. C.; BERTOLDI, F.C; REIS, V. D. A.; SANT'ANNA, E. Rendimento e Eficiência da Fermentação Alcoólica na Produção de Hidromel. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). ISSN 19817215. Dezembro, 2008.
- KERR, W.E. Biologia e manejo da Tiúba, a abelha do Maranhão. São Luís: Edufma, 1996. 156 p.
- KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Quimica Nova**, v. 23, n.1, 2000.
- KOK, S. Metabolic engineering of free-energy (ATP) conserving reactions in *Saccharomyces cerevisiae*. Tese de Doutorado. Technische Universiteit Delft. Delft, Holanda, 2012.
- KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. Berlim: VLB, 1997. p. 433-435.
- LE DUY, A.; ZAJIC, J. E. A Geometrical Approach for Differentiation of an Experimental Function at a Point: Applied to Growth and Product Formation. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 15, p. 805-815, 1973.
- LIMA, L. L. A.; BIBIANO, A. M. F.; **Bebidas Fermentadas I – Cerveja. Tecnologia de Bebidas**.p 69-82, 2001.
- LIMA, L. R.; MARCONDES, A. A. Alcool Carburante: Uma Estratégia Brasileira. Curitiba: UFPR, 248p.,2002.
- LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: LIMA, U. A. (Coord.) **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blucher, 2001.p. 143. (Biotecnologia Industrial; v.3).
- LIMA, U.A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. Biotecnologia Industrial - Tratamento térmico do caldo de cana-de-açúcar para o processo de fermentação alcoólica: O Estado da Arte, Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior - ABEAS - v.24, n.1, p.7-12, 2009.
- MALDONADE, I.R.; CARVALHO, P.G.B.; FERREIRA, N.A. **Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS**. Comunicado Técnico 85, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013.
- MARTÍNEZ, O. C. **Obtenção de cerveja super concentrada com a utilização de xarope de milho como adjunto de malte**. 2014. 149p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Departamento de Biotecnologia. EEL-USP.Lorena, 2008. [In: DEÁK, T. **Handbook of food spoilage yeasts**. Boca Raton, Florida: CRC Press Taylor & Francis, 2008. p. 131 – 132.]
- MATAIX, J. La Cerveza, Tradición y Cultura Mediterránea. **Cerveza e Salud**, v.161, p. 41-44, 2004.

MATOS, D.A.; SANTOS, I.J.; COIMBRA, J.S.R.; SILVA, P.H.A. Fécula de batata como adjuntos de malte na fabricação de cerveja domênica. **B.CEPPA**, v. 23, n. 1, p. 161-172, 2005.

MEGA, J.F.; NEVES, E.; ANDRADE, C.J. A produção da cerveja no Brasil. **Revista de Ciência, Tecnologia, Inovação e Oportunidade**, v. 1,n.1, 2011.

MEILGAARD, M.; CIVILE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2. Edição. Editora CRC Press, Nova York. 354 p. 1991.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. New York: CRC, 1999. 281 p

MENDES, T.A.O.; PINTO, L.M.; MENDES, D.S.O.; MALTA, H.L.; OLIVEIRA, E.S. Aumento na produção de biomassa de levedura em propagador aerado por processo descontínuo e semi-contínuo para produção de cachaça. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 2, 2013.

MENDES, T. M. F. Determinação de espécies metálicas em mel de abelhas por ICP OES. (102). 2003. **Tese (Doutorado) – Faculdade de Química**, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2003.

MILAGRES, F. C.; PAIXÃO, G. R. Novos fatores de conversão de carotenoides provitamínicos. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 25, p. 571-578, 2005.

MONTGOMERY, D.G. **Design and analysis of experiments**. New York: John Wiley and Sons, 2001, 429 p.

MORADO, R. Larousse da cerveja. São Paulo: **Larousse do Brasil**, 2009. p. 357.

MOREIRA, B. L. D.; PARAZZI, C.; PAPIN, L. F.; Jorge José Correa LOPES, J. J. C. Estudo de linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* oriundas da biodiversidade ambiental na fermentação alcoólica. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 1, p. 1672-1677, 2013.

MOREIRA, R. F. A.; MARIA, C. A. B de. Glicídios no mel. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 516-525, 2001.

MOSER, A. **Bioprocess Technology. Kinetics and Reactors**. New York: Springer-Verlag, 1988, 451p.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e Criação de Abelhas Indígenas Sem Ferrão. São Paulo: Nogueirapis. 1997. 446 p.

NAVES, R.F.; FERNANDES, F.S.; PINTO, O.G.; NAVES, P.L.F. Contaminação microbiana nas etapas de processamento e sua influência no rendimento fermentativo em usina alcooleira. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n.11, 2010.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**. 153: 375380, 1944.

ODUMERU, J. A.; D'AMORE, T.; RUSSEL, I.; STEWART, G. G. Effects of heat shock and ethanol stress on the viability of a *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*) brewing yeast strain during fermentation of high gravity wort. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 111-116, 1992.

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 45f. Monografia (Pós-graduação em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, 2011.

ONGA, H.C.; MAHLIAA, T.M.I.; MASJUKIA, H.H.; NORHASYIMAB, R.S. Comparison of palm oil, *Jatropha curcas* and *Calophyllum inophyllum* for biodiesel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 5, p. 3.501-3.515, 2011.

OSACHLO, L. Aplicação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle no processamento industrial de mel de abelhas (*Apis mellifera*). 67 f. Monografia (Especialização) - Universidade de Brasília, Brasília. 2004.

PACHECO, T. F. Fermentação Alcoólica com Leveduras de Características Floculantes em Reator Tipo Torre com Escoamento Ascendente. **Dissertação de Mestrado em Engenharia Química**, Universidade Federal de Uberlândia – MG, 2010.

PAMPLONA, B. C. Exame dos elementos químicos inorgânicos encontrados em méis brasileiros de *Apis mellifera* e suas relações físico-biológicas. São Paulo, 1989.131 p. **Dissertação (Mestrado)** - Instituto de Biologia, Universidade de São Paulo (USP).

PAVLAK, M.C.M.; ABREU-LIMA, T.L.; CARREIRO, S.C.; PAULILLO, S.C.L. Estudo da Fermentação do Hidrolisado de Batata-Doce Utilizando Diferentes Linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. **Quim. Nova**, v.34, n.1, p. 82-86, 2011.

PEREIRA, F.B.; GUIMARÃES, P.M.R.; DOMINGUES, L. Optimization of low-cost medium for very high gravity ethanol fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* using statistical experimental designs. **Bioresource Technology**, v. 101, issue 20, p. 7856-7863, 2010.

PHAM, T.N.L.; DOAN, N.H.D.; LE VAN, V.M. Using fed-batch fermentation in very high gravity brewing: effects of Tween 80 and ergosterol supplementation on fermentation performance of immobilized yeast in calcium alginate gel. **International Food Research Journal**, v.17, p. 995-1002, 2010.

REINOLD, M. R. Manual prático de cervejaria. São Paulo: Aden Editora, 1997.

ROBERT, J.K.; BEN, H.M. Barley (*Hordeum vulgare* L). **Allelopathy Journal**, v.24, p. 225-242, 2009.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Campinas: Editora Casa do Pão, 2005, p.323.

RUSSELL, I.; STEWART, G. G. Brewing. In: REHM, H. J.; REED, G.; PÜHLER, A.; STADLER, P. (Ed.) **Biotechnology. A Multi-volume Comprehensive Treatise. 2º ed. Enzymes, Biomass, Food and Feed**. Weinheim: VCH, 1995. p. 419-462.

RUSSELL, I. Yeast In: HARDWICK, W.A. **Handbook of Brewing**. New York: Marcel Dekker, 1994. p.169-202.

SANTOS, A. M. **Estudo das influências da complementação de nutrientes no mosto sobre o processo de fermentação alcoólica em batelada**. 2008. 77 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió. Disponível em <http://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/408/1/Dissertacao_AlessandraMarquesdosSantos_2008.pdf> Acesso em: 11 mai. 2017.

SARAMAGO, P.S.; STEFFEN, V.; SILVA, J.D. Planejamento de experimentos e otimização de sistemas mistos. **Research Gate**, n. 11, 2008.

SEEMANN, P.; NEIRA, M. Tecnología de la producción apícola. Valdivia: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias Empaste, 1988.

SILVA, D. P.; BRÁNYIK, T.; DRAGONE, G.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; ALMEIDA e SILVA, J. B. High gravity batch and continuous processes for beer production: Evaluation of fermentation performance and beer quality. **Chemical Papers**, v. 62, p. 34-41, 2008.

SILVA, L. R.; VIDEIRA, R.; MONTEIRO, A. P.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. **Microchemical Journal**. n.1, p.73-77, 2009.

SAXENA, S.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. **Food Chemistry**. n. 2, p.391-397, 2010.

SODRÉ, G. S.; MARCHINI, L. C.; ZUCCHI, O. L. A. D.; NASCIMENTO-FILHO, V. F.; OTSUK, I. P.; MORETI, A. C. C. C. Determination of chemical elements in africanized *Apis mellifera* (hymenoptera: apidae) honey samples from the State of Piauí, Brazil. **Química Nova**, n.4, p 920-924, 2007.

SIQUEIRA, P.B.; BOLINI, H.M.A.; MACEDO, G.A. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.4, p. 491-498, 2008.

SCHLABITZ, C.; SILVA, S. A. F.; SOUZA, C. F. V. Avaliação de parâmetros físico-químicos e microbiológicos em mel. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 4, n. 1, p. 80–90, 2010.

SINDICERV. Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja. Origem da cerveja - História. Disponível em: <http://www.sindicerv.com.br/historia.htm>. Acessado em Julho de 2017.

SILVA, I. R.; BANDEIRA, M. L. S. F. Caracterização dos méis de abelha *Apis Mellifera* produzidos no extremo sul da Bahia. *Revista Eletrônica Multidisciplinar Pindorama do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia*, n.2, p. 1-15, 2012.

SILVA, C. L.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. Caracterização físico-química de méis produzidos no Estado do Piauí para diferentes floradas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 8, n. 2/3, p. 260-265, 2004.

SILVA, R. A.; AQUINO, I. S.; RODRIGUES, A. E.; SOUZA, D. L. Análise físico-química de amostras de mel de abelhas *Zamboque (Frieseomelitta Varia)* da Região do Seridó do Rio Grande do Norte. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, v. 4; n. 4, p. 70–75, 2009.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C. Composição e Propriedades Terapêuticas do Mel de Abelha. *Alimentos e Nutrição*, v.17, n. 1, p.113- 120, 2006.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; ALCANFOR, J. D. X.; ASSIS, E. M.; ASQUIERI, E. R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, n. 3, p. 337-341, 2003.

SMITH, B. Brewing beer with honey. Beer Smith Home brewing blog, 2009. Disponível em: <<http://beersmith.com/blog/2009/09/05/brewing-beer-with-honey/>> Acesso em: Abril. 2017.

SOARES, N. Tempo de mudança. *Engarrafador Moderno*, São Caetano do Sul, n. 205, p 14.22, 2011. Disponível em: . Acesso em: Abril. De 2017.

SOUZA, C.S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae***. 2009. 155f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/ Instituto Butantan/PT, São Paulo, 2009.

SOUZA, D.C.; BAZLEN, K. Análises preliminares de características físico-químicas de méis de *Tiúba (Melipona compressipes)* do Piauí. In: XII Congresso Brasileiro de Apicultura, Salvador, BA, 1998, p. 267.

STANLEY, D.; REJZAKE, M.; NAESTED, H.; SMEDLEY, M.; OTERO, S.; FAHY, B.; THORPE, F.; ROBERT, J.N.; HARWOOD, W.; SVENSSON, B.; DENYER, K. FIELD, R.A.; SMITH, A.M. The Role of α -Glucosidase in Germinating barley grains. **Plant Physiology**, 2010.

STECKELBERG, C. Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas. 2001. 215p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

STEWART, G.; RUSSELL, G. **AN Introduction to brewing science & technology series iii brewer's "the ibd blue book on yeast"**. The Institute of Brewing and Distilling, p. 78, 2009.

SUNDRAM, K.; SAMBANTHAMURTHI, R.; TAN, Y.A. Palm fruit chemistry and nutrition. **Asia Pacific journal of Clinical Nutrition**, v. 12, n.3, p.355-362, 2003.

TAYLOR, B., ORGAN, T. Sensory Evaluation. In: Eßlinger, H. M. ed, **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, p.1-779, 2009.

THOMAS, K. C.; HYNES S. H.; INGLEDEW W. M. Effects of Particulate Materials and Osmoprotectants on Very-High-Gravity Ethanol Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, n. 5, p. 1519-1524, 1994.

TRAN, Q.H.; NGUYEN, T.T.; LE, V.V.M.; HOANG, K.A. Effect of Tween 80 and ergosterol supplementation on fermentation performance of the immobilized yeast in high gravity brewing. **International Food Research Journal**, v. 17, p. 309-318, 2010.

ORNIC, H. E. Da cevada a bebida. **Revista Alimentos e Tecnologia**, v. 1, n. 7, p. 11-16, 1986.

TSCHOPE, E. C. **Microcervejarias e Cervejarias**. A História, a Arte e a Tecnologia. São Paulo: Aden, 223p., 2001.

VAN NIEROP, S. N. E; EVANS, D. E; AXCELL, B.C; CANTRELL, I. C; RAUTENBACH, M. **Impact of different wort boiling temperatures on the beer foam stabilizing properties of lipid transfer protein**. Journal of Agricultural and food chemistry. v.52, p. 3120-3129, 2004.

VENTURINI FILHO, W.G.; CEREDA, M.P. Cerveja. In: ALMEIDA, L.U., AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial** (Biotecnologia na produção de alimentos v.4), p. 91-144, Edgar Blücher, Brasil, 2001.

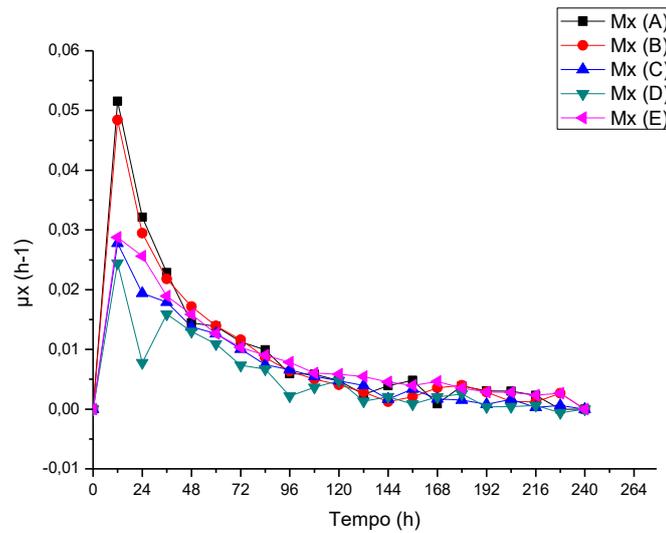
VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas: Matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, Legislação e Mercado**, São Paulo: Edgar Blücher, 2005.

WHITE JUNIOR, J. W. **Methods for determining carbohydrates, hydroxymethylfurfural and proline in honey**. Journal of the Association of Official Analytical Chemistry, v.62, n.3, p.515526, 1979.

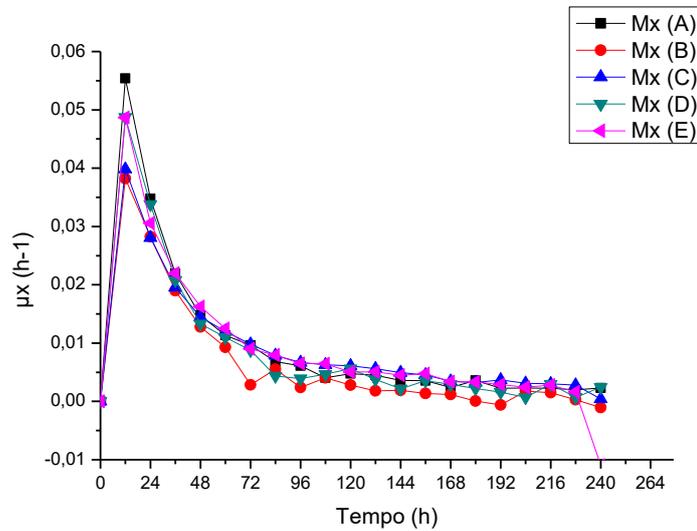
10. APÊNDICES

APÊNDICE 1. - Curvas do estudo cinético das amostras.

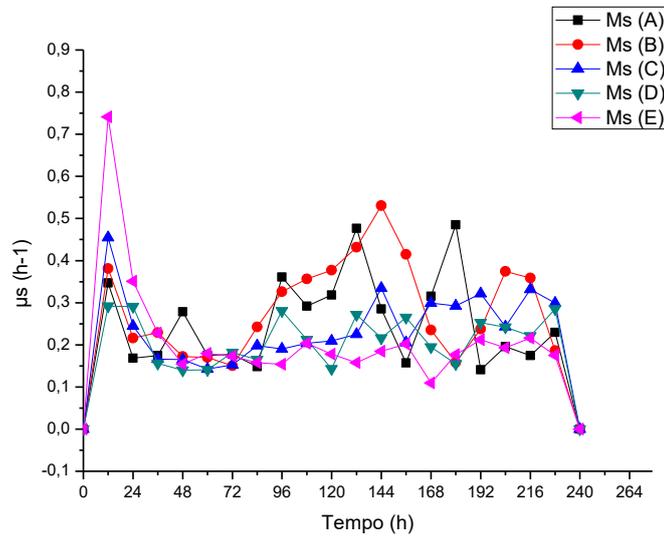
APÊNDICE 1.1 - Curvas da velocidade específica de crescimento celular a 15 °C.



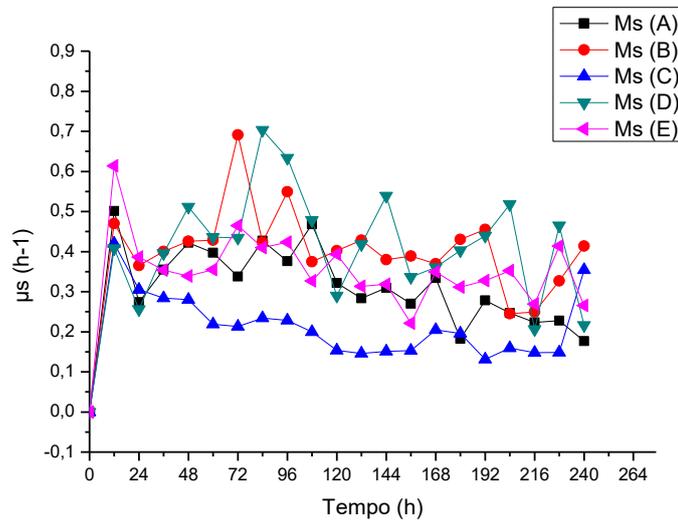
APÊNDICE 1.2 - Curvas da velocidade específica de crescimento celular a 22 °C.



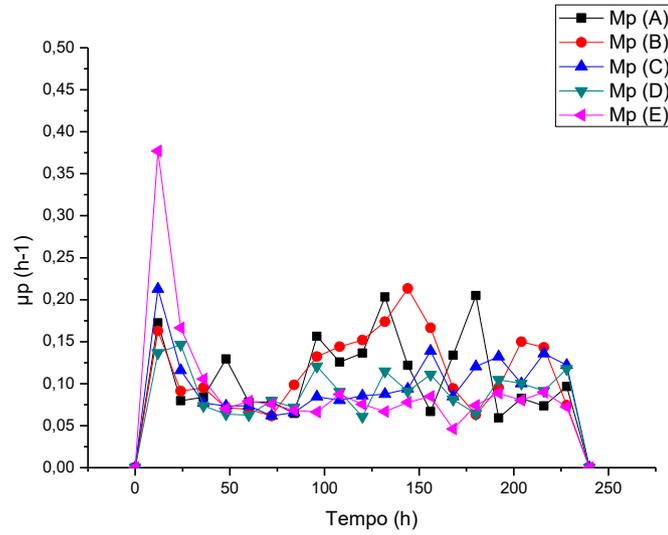
APÊNDICE 1.3 - Curvas da velocidade específica de consumo de substrato a 15 °C.



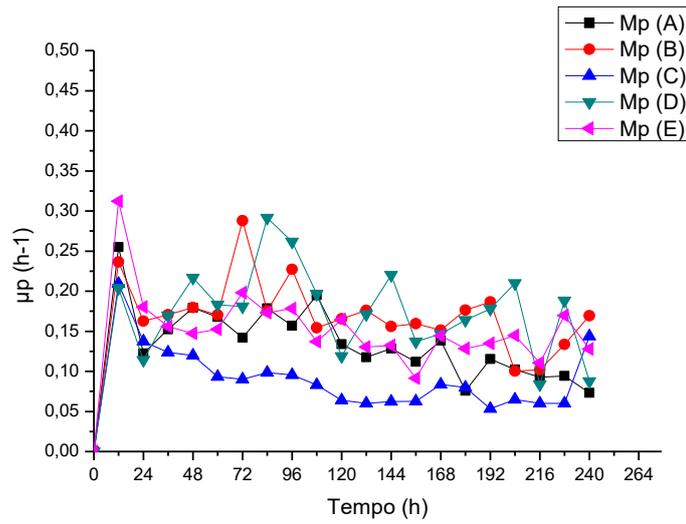
APÊNDICE 1.4 - Curvas da velocidade específica de consumo de substrato a 22 °C.



APÊNDICE 1.5 - Curvas da velocidade específica de produção de etanol a 15 °C.



APÊNDICE 1.6 - Curvas da velocidade específica de produção de etanol a 22 °C.



APÊNDICE 2 – TESTE DE COMPARAÇÃO PAREADA-PREFERÊNCIA
(BICAUDAL).



Nº de respostas	Níveis de significância (%)			
	10	5	1	0,1
5	5	--	--	--
6	6	6	--	--
7	7	7	--	--
8	7	8	8	--
9	8	8	9	--
10	9	9	10	--
11	9	10	11	11
12	10	10	11	12
13	10	11	12	13
14	11	12	13	14
15	12	12	13	14
16	12	13	14	15
17	13	13	15	16
18	13	14	15	17
19	14	15	16	17
20	15	15	17	18
21	15	16	17	19
22	16	17	18	19
23	16	17	19	20
24	17	18	19	21
25	18	18	20	21
26	18	19	20	22
27	19	20	21	23
28	19	20	22	23
29	20	21	22	24
30	20	21	23	25
31	21	22	24	25
32	22	23	24	26
33	22	23	25	27
34	23	24	25	27
35	23	24	26	28
36	24	25	27	29
40	26	27	29	31
44	28	29	31	34
48	31	32	34	36
52	33	34	36	39
56	35	36	39	41
60	37	39	41	44
64	40	41	43	46
68	42	43	46	48
72	44	45	48	51
76	46	48	50	53
80	48	50	52	56
84	51	52	55	58
88	53	54	57	60
92	55	56	59	63
96	57	59	62	65
100	59	61	64	67

Fonte: MEILGARD et al. (1991)

APÊNDICE 3 – RESULTADOS DO ACOMPANHAMENTO DO CRESCIMENTO CELULAR.

	EXPERIMENTO		16ºBRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão Células (g/L)	Células Viáveis (cél/mL)	Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cel/mL)	Viabilidade de Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)									
1	0	1.1	1,481481	1,333333	0,195982	1,90E+07	1,77E+07	2,31E+06	1,00E+06	3,33E+05	1,80E+07	98%
	0	1.2	1,407407			1,90E+07			0,00E+00			
	0	1.3	1,111111			1,50E+07			0,00E+00			
2	12	1.1	2,888889	3,975309	1,074287	3,70E+07	5,03E+07	1,30E+07	2,00E+06	3,33E+06	5,37E+07	94%
	12	1.2	4			5,10E+07			3,00E+06			
	12	1.3	5,037037			6,30E+07			5,00E+06			
3	24	1.1	7,407407	5,82716	2,484888	9,70E+07	7,43E+07	3,18E+07	3,00E+06	4,33E+06	7,87E+07	94%
	24	1.2	7,111111			8,80E+07			8,00E+06			
	24	1.3	2,962963			3,80E+07			2,00E+06			
4	36	1.1	7,777778	7,530864	0,770987	1,05E+08	9,97E+07	9,24E+06	0,00E+00	2,00E+06	1,02E+08	98%
	36	1.2	6,666667			8,90E+07			1,00E+06			
	36	1.3	8,148148			1,05E+08			5,00E+06			
5	48	1.1	3,481481	4,345679	1,561423	4,70E+07	5,80E+07	1,99E+07	0,00E+00	6,67E+05	5,87E+07	99%
	48	1.2	3,407407			4,60E+07			0,00E+00			
	48	1.3	6,148148			8,10E+07			2,00E+06			
6	60	1.1	8,592593	7,876543	0,629993	1,10E+08	1,04E+08	5,69E+06	6,00E+06	2,67E+06	1,06E+08	97%
	60	1.2	7,62963			1,02E+08			1,00E+06			
	60	1.3	7,407407			9,90E+07			1,00E+06			
7	72	1.1	3,703704	7,061728	2,953999	5,00E+07	9,20E+07	3,70E+07	0,00E+00	3,33E+06	9,53E+07	97%
	72	1.2	9,259259			1,20E+08			5,00E+06			
	72	1.3	8,222222			1,06E+08			5,00E+06			
8	84	1.1	3,62963	8,098765	6,740469	4,90E+07	1,06E+08	8,80E+07	0,00E+00	3,67E+06	1,09E+08	97%
	84	1.2	15,85185			2,07E+08			7,00E+06			
	84	1.3	4,814815			6,10E+07			4,00E+06			
9	96	1.1	2,814815	3,08642	0,238115	3,80E+07	4,17E+07	3,21E+06	0,00E+00	0,00E+00	4,17E+07	100%
	96	1.2	3,259259			4,40E+07			0,00E+00			
	96	1.3	3,185185			4,30E+07			0,00E+00			
10	108	1.1	5,037037	3,604938	1,408057	6,10E+07	4,57E+07	1,60E+07	7,00E+06	3,00E+06	4,87E+07	94%
	108	1.2	2,222222			2,90E+07			1,00E+06			
	108	1.3	3,555556			4,70E+07			1,00E+06			
11	120	1.1	3,407407	3,135802	0,238115	4,40E+07	4,10E+07	2,65E+06	2,00E+06	1,33E+06	4,23E+07	97%
	120	1.2	3,037037			3,90E+07			2,00E+06			
	120	1.3	2,962963			4,00E+07			0,00E+00			
12	132	1.1	1,925926	1,975309	0,741974	2,40E+07	2,57E+07	9,61E+06	2,00E+06	1,00E+06	2,67E+07	96%
	132	1.2	2,740741			3,60E+07			1,00E+06			
	132	1.3	1,259259			1,70E+07			0,00E+00			
13	144	1.1	3,703704	3,061728	0,56088	4,80E+07	3,93E+07	7,77E+06	2,00E+06	2,00E+06	4,13E+07	95%
	144	1.2	2,666667			3,30E+07			3,00E+06			
	144	1.3	2,814815			3,70E+07			1,00E+06			
14	156	1.1	2,148148	5,333333	3,914729	1,90E+07	6,30E+07	5,11E+07	1,00E+07	9,00E+06	7,20E+07	88%
	156	1.2	9,703704			1,19E+08			1,20E+07			
	156	1.3	4,148148			5,10E+07			5,00E+06			
15	168	1.1	2,37037	2,518519	0,971472	2,90E+07	3,30E+07	1,35E+07	3,00E+06	1,00E+06	3,40E+07	97%
	168	1.2	1,62963			2,20E+07			0,00E+00			
	168	1.3	3,555556			4,80E+07			0,00E+00			
16	180	1.1	2,074074	1,580247	0,434034	2,40E+07	1,93E+07	4,51E+06	4,00E+06	2,00E+06	2,13E+07	91%
	180	1.2	1,407407			1,90E+07			0,00E+00			
	180	1.3	1,259259			1,50E+07			2,00E+06			
17	192	1.1	4	5,209877	2,031755	5,10E+07	6,60E+07	2,26E+07	3,00E+06	4,33E+06	7,03E+07	94%
	192	1.2	7,555556			9,20E+07			1,00E+07			
	192	1.3	4,074074			5,50E+07			0,00E+00			
18	204	1.1	4,962963	3,555556	1,407407	6,20E+07	4,47E+07	1,70E+07	5,00E+06	3,33E+06	4,80E+07	93%
	204	1.2	3,555556			4,40E+07			4,00E+06			
	204	1.3	2,148148			2,80E+07			1,00E+06			
19	216	1.1	2,148148	3,777778	2,695319	2,90E+07	4,70E+07	3,29E+07	0,00E+00	4,00E+06	5,10E+07	92%
	216	1.2	6,888889			8,50E+07			8,00E+06			
	216	1.3	2,296296			2,70E+07			4,00E+06			
20	228	1.1	2,962963	2,790123	0,154197	3,60E+07	3,53E+07	5,77E+05	4,00E+06	2,33E+06	3,77E+07	94%
	228	1.2	2,666667			3,50E+07			1,00E+06			
	228	1.3	2,740741			3,50E+07			2,00E+06			
21	240	1.1	2,962963	2,790123	0,154197	3,60E+07	3,53E+07	5,77E+05	4,00E+06	2,33E+06	3,77E+07	94%
	240	1.2	2,666667			3,50E+07			1,00E+06			
	240	1.3	2,740741			3,50E+07			2,00E+06			

	EXPERIMENTO		16°BRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão Células (g/L)	22°C		Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cel/mL)	Viabilidade de Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)			Células Viáveis (cél/mL)	Células Viáveis (cél/mL)						
1	0	1.1	1,851852	1,506173	0,421203	2,50E+07	1,93E+07	5,51E+06	0,00E+00	3,00E+06	1,00E+06	2,03E+07	95%
	0	1.2	1,62963			1,90E+07			0				
	0	1.3	1,037037			14000000			0				
2	12	1.1	4	3,950617	0,042767	5,20E+07	5,07E+07	3,21E+06	2,00E+06	0,00E+00	2,67E+06	5,33E+07	95%
	12	1.2	3,925926			5,30E+07			6000000				
	12	1.3	3,925926			47000000			6000000				
3	24	1.1	8,148148	9,111111	2,617866	1,08E+08	1,20E+08	3,56E+07	2,00E+06	4,00E+06	3,00E+06	1,23E+08	98%
	24	1.2	7,111111			9,20E+07			3000000				
	24	1.3	12,07407			1,6E+08			3000000				
4	36	1.1	6	7,135802	1,111934	7,50E+07	8,73E+07	1,43E+07	6,00E+06	1,30E+07	9,00E+06	9,63E+07	91%
	36	1.2	7,185185			8,40E+07			8000000				
	36	1.3	8,222222			1,03E+08			8000000				
5	48	1.1	5,407407	5,160494	1,350371	7,10E+07	6,73E+07	1,88E+07	2,00E+06	2,00E+06	2,33E+06	6,97E+07	97%
	48	1.2	6,37037			8,40E+07			3000000				
	48	1.3	3,703704			47000000			3000000				
6	60	1.1	2,222222	4,716049	3,940806	2,90E+07	5,80E+07	4,43E+07	1,00E+06	0,00E+00	5,67E+06	6,37E+07	91%
	60	1.2	2,666667			3,60E+07			16000000				
	60	1.3	9,259259			1,09E+08			16000000				
7	72	1.1	7,62963	4,938272	2,742075	8,90E+07	5,67E+07	3,03E+07	1,40E+07	0,00E+00	1,00E+07	6,67E+07	85%
	72	1.2	2,148148			2,90E+07			16000000				
	72	1.3	5,037037			52000000			16000000				
8	84	1.1	3,555556	3,530864	1,296473	4,00E+07	4,07E+07	1,30E+07	8,00E+06	2,00E+06	7,00E+06	4,77E+07	85%
	84	1.2	2,222222			2,80E+07			11000000				
	84	1.3	4,814815			54000000			11000000				
9	96	1.1	4,592593	3,62963	1,479628	5,40E+07	4,40E+07	1,82E+07	8,00E+06	3,00E+06	5,00E+06	4,90E+07	90%
	96	1.2	1,925926			2,30E+07			4000000				
	96	1.3	4,37037			55000000			4000000				
10	108	1.1	2,814815	2,666667	0,391963	3,40E+07	3,13E+07	8,33E+06	4,00E+06	2,00E+06	4,67E+06	3,60E+07	87%
	108	1.2	2,962963			3,80E+07			8000000				
	108	1.3	2,222222			22000000			8000000				
11	120	1.1	4,962963	3,506173	1,482099	6,50E+07	4,20E+07	2,46E+07	2,00E+06	1,10E+07	5,33E+06	4,73E+07	89%
	120	1.2	2			1,60E+07			3000000				
	120	1.3	3,555556			45000000			3000000				
12	132	1.1	1,925926	3,703704	2,136623	2,40E+07	3,77E+07	2,37E+07	2,00E+06	1,80E+07	1,23E+07	5,00E+07	75%
	132	1.2	3,111111			2,40E+07			17000000				
	132	1.3	6,074074			65000000			17000000				
13	144	1.1	4,148148	3,111111	1,212645	3,10E+07	3,07E+07	1,15E+07	2,50E+07	4,00E+06	1,13E+07	4,20E+07	73%
	144	1.2	3,407407			4,20E+07			5000000				
	144	1.3	1,777778			19000000			5000000				
14	156	1.1	2,962963	3,382716	1,489485	3,10E+07	3,70E+07	1,59E+07	9,00E+06	1,30E+07	8,67E+06	4,57E+07	81%
	156	1.2	5,037037			5,50E+07			4000000				
	156	1.3	2,148148			25000000			4000000				
15	168	1.1	3,333333	2,518519	0,996565	3,50E+07	2,80E+07	1,04E+07	1,00E+07	3,00E+06	6,00E+06	3,40E+07	82%
	168	1.2	1,407407			1,60E+07			5000000				
	168	1.3	2,814815			33000000			5000000				
16	180	1.1	1,481481	4,320988	4,601147	1,50E+07	4,60E+07	4,61E+07	5,00E+06	1,00E+06	1,23E+07	5,83E+07	79%
	180	1.2	1,851852			2,40E+07			31000000				
	180	1.3	9,62963			99000000			31000000				
17	192	1.1	2,592593	2,666667	1,445868	2,30E+07	2,80E+07	1,51E+07	1,20E+07	1,00E+06	8,00E+06	3,60E+07	78%
	192	1.2	1,259259			1,60E+07			11000000				
	192	1.3	4,148148			45000000			11000000				
18	204	1.1	1,333333	2,814815	2,566001	1,50E+07	2,40E+07	1,65E+07	3,00E+06	4,00E+06	1,40E+07	3,80E+07	63%
	204	1.2	1,333333			1,40E+07			35000000				
	204	1.3	5,777778			43000000			35000000				
19	216	1.1	3,111111	2,962963	0,606322	3,10E+07	2,53E+07	5,13E+06	1,10E+07	2,30E+07	1,47E+07	4,00E+07	63%
	216	1.2	3,481481			2,40E+07			10000000				
	216	1.3	2,296296			21000000			10000000				
20	228	1.1	1,407407	2,765432	1,592736	8,00E+06	2,20E+07	1,71E+07	1,10E+07	1,50E+07	1,53E+07	3,73E+07	59%
	228	1.2	2,37037			1,70E+07			20000000				
	228	1.3	4,518519			41000000			20000000				
21	240	1.1	1,777778	3,382716	1,71227	1,60E+07	2,30E+07	8,89E+06	8,00E+06	2,30E+07	2,27E+07	4,57E+07	50%
	240	1.2	3,185185			2,00E+07			37000000				
	240	1.3	5,185185			33000000			37000000				

	EXPERIMENTO		18°BRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão da Células (g/L)	15 C		Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cel/mL)	Viabilidade Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)			Células Viáveis (cél/mL)	Células Viáveis (cél/mL)						
1	0	2.1	2,296296	1,604938	0,704029	3,00E+07	2,07E+07	9,50E+06	1,00E+06	1,00E+06	2,17E+07	95%	
	0	2.2	1,62963			2,10E+07							
	0	2.3	0,888889			1,10E+07							
2	12	2.1	3,851852	3,82716	1,074287	4,90E+07	4,97E+07	1,60E+07	0,00E+00	2,00E+06	5,17E+07	96%	
	12	2.2	4,888889			6,60E+07							
	12	2.3	2,740741			3,40E+07							
3	24	2.1	7,925926	5,481481	2,171015	1,04E+08	7,23E+07	2,84E+07	2,00E+06	1,67E+06	7,40E+07	98%	
	24	2.2	3,777778			4,90E+07							
	24	2.3	4,740741			6,40E+07							
4	36	2.1	5,851852	7,432099	1,592736	7,50E+07	9,53E+07	2,05E+07	6,00E+06	5,00E+06	1,00E+08	95%	
	36	2.2	9,037037			1,16E+08							
	36	2.3	7,407407			9,50E+07							
5	48	2.1	7,481481	9,111111	1,751347	1,00E+08	1,20E+08	2,06E+07	1,00E+06	3,33E+06	1,23E+08	97%	
	48	2.2	10,96296			1,41E+08							
	48	2.3	8,888889			1,18E+08							
6	60	2.1	9,111111	9,777778	1,555556	1,14E+08	1,28E+08	2,28E+07	9,00E+06	4,33E+06	1,32E+08	97%	
	60	2.2	8,666667			1,15E+08							
	60	2.3	11,55556			1,54E+08							
7	72	2.1	5,185185	9,802469	6,11743	6,50E+07	1,28E+08	8,37E+07	5,00E+06	4,33E+06	1,32E+08	97%	
	72	2.2	16,74074			2,23E+08							
	72	2.3	7,481481			9,60E+07							
8	84	2.1	5,185185	5,851852	0,706622	6,80E+07	7,70E+07	9,54E+06	2,00E+06	2,00E+06	7,90E+07	97%	
	84	2.2	6,592593			8,70E+07							
	84	2.3	5,777778			7,60E+07							
9	96	2.1	3,481481	4,098765	0,943779	4,70E+07	5,43E+07	1,10E+07	0,00E+00	1,00E+06	5,53E+07	98%	
	96	2.2	5,185185			6,70E+07							
	96	2.3	3,62963			4,90E+07							
10	108	2.1	3,185185	3,506173	1,037918	4,00E+07	4,50E+07	1,23E+07	3,00E+06	2,33E+06	4,73E+07	95%	
	108	2.2	4,666667			5,90E+07							
	108	2.3	2,666667			3,60E+07							
11	120	2.1	3,407407	3,135802	0,741974	3,60E+07	3,80E+07	9,17E+06	1,00E+07	4,33E+06	4,23E+07	90%	
	120	2.2	3,703704			4,80E+07							
	120	2.3	2,296296			3,00E+07							
12	132	2.1	1,555556	2,567901	1,3299	1,90E+07	3,07E+07	1,69E+07	2,00E+06	4,00E+06	3,47E+07	88%	
	132	2.2	2,074074			2,30E+07							
	132	2.3	4,074074			5,00E+07							
13	144	2.1	1,259259	1,950617	0,79205	1,50E+07	2,47E+07	1,12E+07	2,00E+06	1,67E+06	2,63E+07	94%	
	144	2.2	2,814815			3,70E+07							
	144	2.3	1,777778			2,20E+07							
14	156	2.1	2,148148	2,37037	0,658385	2,70E+07	2,93E+07	6,81E+06	2,00E+06	2,67E+06	3,20E+07	92%	
	156	2.2	1,851852			2,40E+07							
	156	2.3	3,111111			3,70E+07							
15	168	2.1	2,222222	4	2,351779	2,60E+07	4,80E+07	2,69E+07	4,00E+06	6,00E+06	5,40E+07	89%	
	168	2.2	6,666667			7,80E+07							
	168	2.3	3,111111			4,00E+07							
16	180	2.1	2	5,703704	6,097066	2,40E+07	6,90E+07	7,45E+07	1,70E+07	8,00E+06	7,70E+07	90%	
	180	2.2	12,74074			1,55E+08							
	180	2.3	2,37037			2,80E+07							
17	192	2.1	2,222222	3,555556	2,83811	3,00E+07	4,47E+07	3,26E+07	0,00E+00	3,33E+06	4,80E+07	93%	
	192	2.2	1,62963			2,20E+07							
	192	2.3	6,814815			8,20E+07							
18	204	2.1	2,222222	2,17284	0,815936	2,30E+07	2,53E+07	8,74E+06	7,00E+06	4,00E+06	2,93E+07	86%	
	204	2.2	1,333333			1,80E+07							
	204	2.3	2,962963			3,50E+07							
19	216	2.1	1,555556	2,17284	0,719447	1,90E+07	2,63E+07	9,45E+06	2,00E+06	3,00E+06	2,93E+07	90%	
	216	2.2	2,962963			3,70E+07							
	216	2.3	2			2,30E+07							
20	228	2.1	2,074074	4,049383	2,46716	2,60E+07	4,60E+07	2,57E+07	2,00E+06	8,67E+06	5,47E+07	84%	
	228	2.2	6,814815			7,50E+07							
	228	2.3	3,259259			3,70E+07							
21	240	2.1	2,074074	4,049383	2,46716	2,60E+07	4,60E+07	2,57E+07	2,00E+06	8,67E+06	5,47E+07	84%	
	240	2.2	6,814815			7,50E+07							
	240	2.3	3,259259			3,70E+07							

	EXPERIMENTO		18°BRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão da Células (g/L)	22°C		Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cel/mL)	Viabilidade Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)			Células Viáveis (cél/mL)	Células Viáveis (cél/mL)						
1	0	2.1	1,62963	2,098765	0,525526	2,10E+07	2,53E+07	6,66E+06	1,00E+06	3,00E+06	2,83E+07	89%	
	0	2.2	2,666667			3,30E+07			3,00E+06				
	0	2.3	2			2,20E+07			5,00E+06				
2	12	2.1	2,296296	3,876543	1,438894	2,90E+07	5,17E+07	2,05E+07	2,00E+06	6,67E+05	5,23E+07	99%	
	12	2.2	5,111111			6,90E+07			0,00E+00				
	12	2.3	4,222222			5,70E+07			0,00E+00				
3	24	2.1	5,185185	6,518519	1,654689	6,90E+07	8,63E+07	2,19E+07	1,00E+06	1,67E+06	8,80E+07	98%	
	24	2.2	6			7,90E+07			2,00E+06				
	24	2.3	8,37037			1,11E+08			2,00E+06				
4	36	2.1	4,222222	6,641975	3,000991	5,50E+07	8,40E+07	3,31E+07	2,00E+06	5,67E+06	8,97E+07	94%	
	36	2.2	5,703704			7,70E+07			0,00E+00				
	36	2.3	10			1,20E+08			1,50E+07				
5	48	2.1	4,962963	5,432099	0,575367	5,30E+07	6,53E+07	1,07E+07	1,40E+07	8,00E+06	7,33E+07	89%	
	48	2.2	5,259259			7,10E+07			0,00E+00				
	48	2.3	6,074074			7,20E+07			1,00E+07				
6	60	2.1	5,185185	4,740741	1,106162	6,50E+07	5,80E+07	1,39E+07	5,00E+06	6,00E+06	6,40E+07	91%	
	60	2.2	3,481481			4,20E+07			5,00E+06				
	60	2.3	5,555556			6,70E+07			8,00E+06				
7	72	2.1	2,518519	2,641975	0,35006	3,10E+07	3,33E+07	5,86E+06	3,00E+06	2,33E+06	3,57E+07	93%	
	72	2.2	3,037037			4,00E+07			1,00E+06				
	72	2.3	2,37037			2,90E+07			3,00E+06				
8	84	2.1	4,148148	3,901235	1,423559	5,00E+07	4,67E+07	1,72E+07	6,00E+06	6,00E+06	5,27E+07	89%	
	84	2.2	5,185185			6,20E+07			8,00E+06				
	84	2.3	2,37037			2,80E+07			4,00E+06				
9	96	2.1	1,407407	2,716049	1,721857	1,80E+07	2,83E+07	1,11E+07	1,00E+06	8,33E+06	3,67E+07	77%	
	96	2.2	2,074074			2,70E+07			1,00E+06				
	96	2.3	4,666667			4,00E+07			2,30E+07				
10	108	2.1	1,555556	3,728395	3,02648	1,90E+07	4,43E+07	3,80E+07	2,00E+06	6,00E+06	5,03E+07	88%	
	108	2.2	7,185185			8,80E+07			9,00E+06				
	108	2.3	2,444444			2,60E+07			7,00E+06				
11	120	2.1	2,37037	3,160494	1,30491	2,80E+07	3,77E+07	1,76E+07	4,00E+06	5,00E+06	4,27E+07	88%	
	120	2.2	4,666667			5,80E+07			5,00E+06				
	120	2.3	2,444444			2,70E+07			6,00E+06				
12	132	2.1	3,037037	2,765432	0,35006	3,40E+07	3,13E+07	3,06E+06	7,00E+06	6,00E+06	3,73E+07	84%	
	132	2.2	2,37037			2,80E+07			4,00E+06				
	132	2.3	2,888889			3,20E+07			7,00E+06				
13	144	2.1	1,555556	2,888889	2,05814	1,50E+07	3,00E+07	2,10E+07	6,00E+06	9,00E+06	3,90E+07	77%	
	144	2.2	1,851852			2,10E+07			4,00E+06				
	144	2.3	5,259259			5,40E+07			1,70E+07				
14	156	2.1	1,555556	2,666667	0,968644	1,80E+07	2,73E+07	8,33E+06	3,00E+06	8,67E+06	3,60E+07	76%	
	156	2.2	3,333333			3,40E+07			1,10E+07				
	156	2.3	3,111111			3,00E+07			1,20E+07				
15	168	2.1	3,777778	2,617284	1,005699	4,30E+07	2,47E+07	1,63E+07	8,00E+06	1,07E+07	3,53E+07	70%	
	168	2.2	2,074074			1,20E+07			1,60E+07				
	168	2.3	2			1,90E+07			8,00E+06				
16	180	2.1	1,333333	2,123457	0,745663	1,60E+07	2,27E+07	6,51E+06	2,00E+06	6,00E+06	2,87E+07	79%	
	180	2.2	2,222222			2,30E+07			7,00E+06				
	180	2.3	2,814815			2,90E+07			9,00E+06				
17	192	2.1	1,481481	1,876543	0,35006	1,50E+07	1,87E+07	4,73E+06	5,00E+06	6,67E+06	2,53E+07	74%	
	192	2.2	2,148148			2,40E+07			5,00E+06				
	192	2.3	2			1,70E+07			1,00E+07				
18	204	2.1	5,333333	3,283951	1,820977	4,50E+07	2,87E+07	1,48E+07	2,70E+07	1,57E+07	4,43E+07	65%	
	204	2.2	1,851852			1,60E+07			9,00E+06				
	204	2.3	2,666667			2,50E+07			1,10E+07				
19	216	2.1	3,111111	3,08642	0,481956	2,60E+07	2,47E+07	4,16E+06	1,60E+07	1,70E+07	4,17E+07	59%	
	216	2.2	3,555556			2,80E+07			2,00E+07				
	216	2.3	2,592593			2,00E+07			1,50E+07				
20	228	2.1	1,851852	2,246914	0,56088	1,60E+07	1,60E+07	1,00E+06	9,00E+06	1,43E+07	3,03E+07	53%	
	228	2.2	2			1,50E+07			1,20E+07				
	228	2.3	2,888889			1,70E+07			2,20E+07				
21	240	2.1	1,925926	1,679012	1,570184	1,30E+07	1,75E+07	6,36E+06	1,30E+07	1,65E+07	3,40E+07	51%	
	240	2.2	3,111111			2,20E+07			2,00E+07				
	240	2.3	0										

EXPERIMENTO			20ºBRIX			15 °C						
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão das Células (g/L)	Células Viáveis (cél/mL)	Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cel/mL)	Viabilidade Celular (%)
1	0	3.1	2,074074	2,271605	0,342133	2,40E+07	2,93E+07	6,11E+06	4,00E+06	1,33E+06	3,07E+07	96%
	0	3.2	2,074074			2,80E+07			0,00E+00			
	0	3.3	2,666667			3,60E+07			0,00E+00			
2	12	3.1	3,851852	3,407407	0,90115	4,10E+07	4,00E+07	9,54E+06	1,10E+07	6,00E+06	4,60E+07	87%
	12	3.2	4			4,90E+07			5,00E+06			
	12	3.3	2,37037			3,00E+07			2,00E+06			
3	24	3.1	4,296296	4,246914	0,446497	5,40E+07	5,20E+07	3,46E+06	4,00E+06	5,33E+06	5,73E+07	91%
	24	3.2	4,666667			5,40E+07			9,00E+06			
	24	3.3	3,777778			4,80E+07			3,00E+06			
4	36	3.1	6,814815	6,395062	1,489485	8,90E+07	8,40E+07	2,10E+07	3,00E+06	2,33E+06	8,63E+07	97%
	36	3.2	7,62963			1,02E+08			1,00E+06			
	36	3.3	4,740741			6,10E+07			3,00E+06			
5	48	3.1	6,222222	6,716049	0,4526	8,40E+07	8,87E+07	6,43E+06	0,00E+00	2,00E+06	9,07E+07	98%
	48	3.2	6,814815			8,60E+07			6,00E+06			
	48	3.3	7,111111			9,60E+07			0,00E+00			
6	60	3.1	9,555556	9,432099	3,742268	1,26E+08	1,26E+08	5,15E+07	3,00E+06	1,67E+06	1,27E+08	99%
	60	3.2	5,62963			7,40E+07			2,00E+06			
	60	3.3	13,11111			1,77E+08			0,00E+00			
7	72	3.1	7,259259	8,222222	1,002056	9,60E+07	1,03E+08	7,55E+06	2,00E+06	8,00E+06	1,11E+08	93%
	72	3.2	9,259259			1,11E+08			1,40E+07			
	72	3.3	8,148148			1,02E+08			8,00E+06			
8	84	3.1	6,888889	6,098765	0,745663	9,10E+07	8,10E+07	1,00E+07	2,00E+06	1,33E+06	8,23E+07	98%
	84	3.2	5,407407			7,10E+07			2,00E+06			
	84	3.3	6			8,10E+07			0,00E+00			
9	96	3.1	6,444444	6,148148	0,267078	8,50E+07	8,00E+07	4,36E+06	2,00E+06	3,00E+06	8,30E+07	96%
	96	3.2	5,925926			7,70E+07			3,00E+06			
	96	3.3	6,074074			7,80E+07			4,00E+06			
10	108	3.1	3,555556	5,555556	2,119865	4,50E+07	6,97E+07	2,79E+07	3,00E+06	5,33E+06	7,50E+07	93%
	108	3.2	7,777778			1,00E+08			5,00E+06			
	108	3.3	5,333333			6,40E+07			8,00E+06			
11	120	3.1	5,777778	5,234568	1,07173	7,30E+07	6,33E+07	1,59E+07	5,00E+06	7,33E+06	7,07E+07	90%
	120	3.2	5,925926			7,20E+07			8,00E+06			
	120	3.3	4			4,50E+07			9,00E+06			
12	132	3.1	4,37037	4,765432	1,8104	5,20E+07	6,07E+07	2,51E+07	7,00E+06	3,67E+06	6,43E+07	94%
	132	3.2	3,185185			4,10E+07			2,00E+06			
	132	3.3	6,740741			8,90E+07			2,00E+06			
13	144	3.1	2,37037	2,987654	0,943779	3,00E+07	3,83E+07	1,12E+07	2,00E+06	2,00E+06	4,03E+07	95%
	144	3.2	2,518519			3,40E+07			0,00E+00			
	144	3.3	4,074074			5,10E+07			4,00E+06			
14	156	3.1	3,111111	4,765432	2,14218	4,10E+07	5,50E+07	1,93E+07	1,00E+06	9,33E+06	6,43E+07	85%
	156	3.2	4			4,70E+07			7,00E+06			
	156	3.3	7,185185			7,70E+07			2,00E+07			
15	168	3.1	1,703704	3,185185	1,746641	2,30E+07	3,60E+07	1,47E+07	0,00E+00	7,00E+06	4,30E+07	84%
	168	3.2	2,740741			3,30E+07			4,00E+06			
	168	3.3	5,111111			5,20E+07			1,70E+07			
16	180	3.1	4	3,111111	0,801234	5,00E+07	3,70E+07	1,21E+07	4,00E+06	5,00E+06	4,20E+07	88%
	180	3.2	2,444444			2,60E+07			7,00E+06			
	180	3.3	2,888889			3,50E+07			4,00E+06			
17	192	3.1	2	2,691358	0,745663	2,50E+07	3,17E+07	6,11E+06	2,00E+06	4,67E+06	3,63E+07	87%
	192	3.2	2,592593			3,30E+07			2,00E+06			
	192	3.3	3,481481			3,70E+07			1,00E+07			
18	204	3.1	2,888889	3,407407	0,518519	3,90E+07	4,07E+07	4,73E+06	0,00E+00	5,33E+06	4,60E+07	88%
	204	3.2	3,925926			4,60E+07			7,00E+06			
	204	3.3	3,407407			3,70E+07			9,00E+06			
19	216	3.1	3,925926	2,419753	1,30491	4,90E+07	2,83E+07	1,79E+07	4,00E+06	4,33E+06	3,27E+07	87%
	216	3.2	1,703704			1,80E+07			5,00E+06			
	216	3.3	1,62963			1,80E+07			4,00E+06			
20	228	3.1	3,481481	2,641975	0,937947	4,10E+07	3,23E+07	1,03E+07	6,00E+06	3,33E+06	3,57E+07	91%
	228	3.2	2,814815			3,50E+07			3,00E+06			
	228	3.3	1,62963			2,10E+07			1,00E+06			
21	240	3.1	3,481481	2,641975	0,937947	4,10E+07	3,23E+07	1,03E+07	6,00E+06	3,33E+06	3,57E+07	91%
	240	3.2	2,814815			3,50E+07			3,00E+06			
	240	3.3	1,62963			2,10E+07			1,00E+06			

	EXPERIMENTO		20ºBRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão das Células (g/L)	22 °C	Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cel/mL)	Viabilidade Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)									
1	0	3.1	2,148148	2,024691	0,11315	2,50E+07	2,37E+07	1,53E+06	4,00E+06	3,67E+06	2,73E+07	87%
	0	3.2	2									
	0	3.3	1,925926									
2	12	3.1	3,333333	3,876543	0,815936	4,20E+07	4,83E+07	7,77E+06	1,00E+06	4,00E+06	5,23E+07	92%
	12	3.2	3,481481									
	12	3.3	4,814815									
3	24	3.1	4,37037	6,197531	3,037338	4,90E+07	6,00E+07	2,35E+07	1,00E+07	2,37E+07	8,37E+07	72%
	24	3.2	4,518519									
	24	3.3	9,703704									
4	36	3.1	5,925926	6,864198	2,227566	5,30E+07	5,40E+07	4,58E+06	2,70E+07	3,87E+07	9,27E+07	58%
	36	3.2	5,259259									
	36	3.3	9,407407									
5	48	3.1	6,296296	6,641975	0,308395	5,10E+07	5,40E+07	8,89E+06	3,40E+07	3,57E+07	8,97E+07	60%
	48	3.2	6,888889									
	48	3.3	6,740741									
6	60	3.1	6,666667	7,209877	1,275136	5,60E+07	4,83E+07	1,24E+07	3,40E+07	4,90E+07	9,73E+07	50%
	60	3.2	6,296296									
	60	3.3	8,666667									
7	72	3.1	5,62963	6,888889	2,37615	4,10E+07	4,83E+07	7,51E+06	3,50E+07	4,47E+07	9,30E+07	52%
	72	3.2	5,407407									
	72	3.3	9,62963									
8	84	3.1	4	5,975309	2,98357	3,20E+07	4,20E+07	1,40E+07	2,20E+07	3,87E+07	8,07E+07	52%
	84	3.2	4,518519									
	84	3.3	9,407407									
9	96	3.1	3,777778	5,679012	1,853826	2,80E+07	4,10E+07	1,21E+07	2,30E+07	3,57E+07	7,67E+07	53%
	96	3.2	5,777778									
	96	3.3	7,481481									
10	108	3.1	5,555556	6,320988	2,711894	3,90E+07	3,90E+07	2,10E+07	3,60E+07	4,63E+07	8,53E+07	46%
	108	3.2	4,074074									
	108	3.3	9,333333									
11	120	3.1	5,777778	7,555556	1,649708	3,30E+07	4,67E+07	1,35E+07	4,50E+07	5,53E+07	1,02E+08	46%
	120	3.2	9,037037									
	120	3.3	7,851852									
12	132	3.1	5,259259	7,753086	3,234191	4,10E+07	5,20E+07	1,49E+07	3,00E+07	5,27E+07	1,05E+08	50%
	132	3.2	6,592593									
	132	3.3	11,40741									
13	144	3.1	2,518519	7,08642	5,922375	2,30E+07	5,77E+07	4,61E+07	1,10E+07	3,80E+07	9,57E+07	60%
	144	3.2	4,962963									
	144	3.3	13,77778									
14	156	3.1	3,111111	6,864198	3,895996	2,90E+07	5,00E+07	2,15E+07	1,30E+07	4,27E+07	9,27E+07	54%
	156	3.2	6,592593									
	156	3.3	10,88889									
15	168	3.1	4,074074	4,814815	2,312962	3,10E+07	4,00E+07	2,10E+07	2,40E+07	2,50E+07	6,50E+07	62%
	168	3.2	2,962963									
	168	3.3	7,407407									
16	180	3.1	4,666667	4,864198	0,407968	3,10E+07	3,73E+07	5,69E+06	3,20E+07	2,83E+07	6,57E+07	57%
	180	3.2	5,333333									
	180	3.3	4,592593									
17	192	3.1	4,814815	6,962963	3,101396	3,00E+07	5,03E+07	2,41E+07	3,50E+07	4,37E+07	9,40E+07	54%
	192	3.2	5,555556									
	192	3.3	10,51852									
18	204	3.1	3,62963	5,481481	3,401767	3,50E+07	4,37E+07	2,23E+07	1,40E+07	3,03E+07	7,40E+07	59%
	204	3.2	3,407407									
	204	3.3	9,407407									
19	216	3.1	5,111111	5,802469	1,197467	3,70E+07	4,37E+07	9,87E+06	3,20E+07	3,47E+07	7,83E+07	56%
	216	3.2	5,111111									
	216	3.3	7,185185									
20	228	3.1	2,962963	5,555556	2,982344	2,40E+07	4,67E+07	2,73E+07	1,60E+07	2,83E+07	7,50E+07	62%
	228	3.2	4,888889									
	228	3.3	8,814815									
21	240	3.1	2,666667	2,246914	2,069218	1,70E+07	2,35E+07	9,19E+06	1,90E+07	2,20E+07	4,55E+07	52%
	240	3.2	4,074074									
	240	3.3	0									

	EXPERIMENTO		22 °BRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão das Células (g/L)	15 °C		Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cél/mL)	Viabilidade Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)			Células Viáveis (cél/mL)	Média das Células Viáveis (cél/mL)					
1	0	4.1	2,148148	3,333333	1,567853	2,80E+07	4,37E+07	1,99E+07	1,00E+06	1,33E+06	4,50E+07	97%
	0	4.2	5,111111			6,60E+07			3,00E+06			
	0	4.3	2,740741			3,70E+07			0,00E+00			
2	12	4.1	4,962963	4,716049	0,914247	6,40E+07	6,07E+07	9,45E+06	3,00E+06	3,00E+06	6,37E+07	95%
	12	4.2	5,481481			6,80E+07			6,00E+06			
	12	4.3	3,703704			5,00E+07			0,00E+00			
3	24	4.1	4,296296	4,098765	0,28044	5,80E+07	5,27E+07	7,57E+06	0,00E+00	2,67E+06	5,53E+07	95%
	24	4.2	3,777778			4,40E+07			7,00E+06			
	24	4.3	4,222222			5,60E+07			1,00E+06			
4	36	4.1	7,259259	7,802469	1,625134	8,40E+07	9,87E+07	2,45E+07	1,40E+07	6,67E+06	1,05E+08	94%
	36	4.2	6,518519			8,50E+07			3,00E+06			
	36	4.3	9,62963			1,27E+08			3,00E+06			
5	48	4.1	11,55556	8,864198	2,536248	1,45E+08	1,15E+08	2,95E+07	1,10E+07	4,33E+06	1,20E+08	96%
	48	4.2	6,518519			8,60E+07			2,00E+06			
	48	4.3	8,518519			1,15E+08			0,00E+00			
6	60	4.1	9,037037	9,62963	1,091179	1,13E+08	1,23E+08	1,48E+07	9,00E+06	7,00E+06	1,30E+08	95%
	60	4.2	8,962963			1,16E+08			5,00E+06			
	60	4.3	10,88889			1,40E+08			7,00E+06			
7	72	4.1	6,814815	7,061728	0,427667	8,60E+07	8,93E+07	4,93E+06	6,00E+06	6,00E+06	9,53E+07	94%
	72	4.2	6,814815			8,70E+07			5,00E+06			
	72	4.3	7,555556			9,50E+07			7,00E+06			
8	84	4.1	5,925926	7,62963	1,479628	7,50E+07	9,97E+07	2,16E+07	5,00E+06	3,33E+06	1,03E+08	97%
	84	4.2	8,592593			1,15E+08			1,00E+06			
	84	4.3	8,37037			1,09E+08			4,00E+06			
9	96	4.1	4	4,222222	0,729545	5,40E+07	5,47E+07	9,02E+06	0,00E+00	2,33E+06	5,70E+07	96%
	96	4.2	3,62963			4,60E+07			3,00E+06			
	96	4.3	5,037037			6,40E+07			4,00E+06			
10	108	4.1	2,518519	5,481481	3,493282	3,10E+07	6,50E+07	4,42E+07	3,00E+06	9,00E+06	7,40E+07	88%
	108	4.2	9,333333			1,15E+08			1,10E+07			
	108	4.3	4,592593			4,90E+07			1,30E+07			
11	120	4.1	6,888889	7,802469	1,71227	8,20E+07	9,50E+07	2,34E+07	1,10E+07	1,03E+07	1,05E+08	90%
	120	4.2	6,740741			8,10E+07			1,00E+07			
	120	4.3	9,777778			1,22E+08			1,00E+07			
12	132	4.1	4,148148	4,024691	1,300698	5,00E+07	4,93E+07	1,90E+07	6,00E+06	5,00E+06	5,43E+07	91%
	132	4.2	2,666667			3,00E+07			3,00E+06			
	132	4.3	5,259259			6,80E+07			3,00E+06			
13	144	4.1	4,222222	4,740741	0,773356	4,50E+07	5,57E+07	1,10E+07	1,20E+07	8,33E+06	6,40E+07	87%
	144	4.2	5,62963			6,70E+07			9,00E+06			
	144	4.3	4,37037			5,50E+07			4,00E+06			
14	156	4.1	3,851852	3,851852	0,074074	4,00E+07	4,27E+07	3,06E+06	1,20E+07	9,33E+06	5,20E+07	82%
	156	4.2	3,777778			4,60E+07			5,00E+06			
	156	4.3	3,925926			4,20E+07			1,10E+07			
15	168	4.1	3,851852	5,061728	1,968662	3,60E+07	5,47E+07	2,42E+07	1,60E+07	1,37E+07	6,83E+07	80%
	168	4.2	4			4,60E+07			8,00E+06			
	168	4.3	7,333333			8,20E+07			1,70E+07			
16	180	4.1	7,481481	6,123457	1,543753	8,40E+07	6,77E+07	1,76E+07	1,70E+07	1,50E+07	8,27E+07	82%
	180	4.2	4,444444			4,90E+07			1,10E+07			
	180	4.3	6,444444			7,00E+07			1,70E+07			
17	192	4.1	2	3,580247	2,071868	2,30E+07	3,97E+07	2,23E+07	4,00E+06	8,67E+06	4,83E+07	82%
	192	4.2	2,814815			3,10E+07			7,00E+06			
	192	4.3	5,925926			6,50E+07			1,50E+07			
18	204	4.1	3,703704	3,62963	0,928145	3,40E+07	3,60E+07	9,17E+06	1,60E+07	1,30E+07	4,90E+07	73%
	204	4.2	2,666667			2,80E+07			8,00E+06			
	204	4.3	4,518519			4,60E+07			1,50E+07			
19	216	4.1	5,037037	3,82716	1,725041	5,60E+07	4,07E+07	2,00E+07	1,20E+07	1,10E+07	5,17E+07	79%
	216	4.2	4,592593			4,80E+07			1,40E+07			
	216	4.3	1,851852			1,80E+07			7,00E+06			
20	228	4.1	3,111111	2,938272	0,154197	2,80E+07	3,10E+07	2,65E+06	1,40E+07	8,67E+06	3,97E+07	78%
	228	4.2	2,814815			3,30E+07			5,00E+06			
	228	4.3	2,888889			3,20E+07			7,00E+06			
21	240	4.1	3,111111	2,938272	0,154197	2,80E+07	3,10E+07	2,65E+06	1,40E+07	8,67E+06	3,97E+07	78%
	240	4.2	2,814815			3,30E+07			5,00E+06			
	240	4.3	2,888889			3,20E+07			7,00E+06			

	EXPERIMENTO		22 °BRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão das Células (g/L)	22 °C		Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/L)	Média das Células não Viáveis (cél/L)	Células Totais (cél/mL)	Viabilidade Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)			Células Viáveis (cél/L)	Média das Células Viáveis (cél/L)					
1	0	4.1	1,62963	1,62963	0,148148	1,80E+07	1,87E+07	3,06E+06	4,00E+06	3,33E+06	2,20E+07	85%
	0	4.2	1,481481			1,60E+07			4,00E+06			
	0	4.3	1,777778			22000000			2000000			
2	12	4.1	4,074074	3,925926	0,148148	5,20E+07	5,07E+07	1,15E+06	3,00E+06	2,33E+06	5,30E+07	96%
	12	4.2	3,777778			5,00E+07			1,00E+06			
	12	4.3	3,925926			50000000			3000000			
3	24	4.1	7,777778	8,641975	1,079382	1,03E+08	1,14E+08	1,49E+07	2,00E+06	2,67E+06	1,17E+08	98%
	24	4.2	8,296296			1,08E+08			4,00E+06			
	24	4.3	9,851852			1,31E+08			2000000			
4	36	4.1	6,296296	6,444444	3,261784	8,30E+07	7,87E+07	3,47E+07	2,00E+06	8,33E+06	8,70E+07	90%
	36	4.2	3,259259			4,20E+07			2,00E+06			
	36	4.3	9,777778			1,11E+08			21000000			
5	48	4.1	5,111111	4,518519	1,091179	6,40E+07	5,43E+07	1,19E+07	5,00E+06	6,67E+06	6,10E+07	89%
	48	4.2	3,259259			4,10E+07			3,00E+06			
	48	4.3	5,185185			58000000			12000000			
6	60	4.1	6,074074	4,790123	1,912106	6,60E+07	5,33E+07	2,46E+07	1,60E+07	1,13E+07	6,47E+07	82%
	60	4.2	5,703704			6,90E+07			8,00E+06			
	60	4.3	2,592593			25000000			10000000			
7	72	4.1	4,074074	4,444444	1,263609	4,20E+07	5,07E+07	1,42E+07	1,30E+07	9,33E+06	6,00E+07	84%
	72	4.2	3,407407			4,30E+07			3,00E+06			
	72	4.3	5,851852			67000000			12000000			
8	84	4.1	2,888889	2,567901	0,334019	3,10E+07	2,67E+07	3,79E+06	8,00E+06	8,00E+06	3,47E+07	77%
	84	4.2	2,222222			2,40E+07			6,00E+06			
	84	4.3	2,592593			25000000			10000000			
9	96	4.1	1,555556	2,617284	1,037918	1,90E+07	2,40E+07	5,00E+06	2,00E+06	1,13E+07	3,53E+07	68%
	96	4.2	3,62963			2,90E+07			2,00E+07			
	96	4.3	2,666667			24000000			12000000			
10	108	4.1	2,148148	3,283951	1,148347	2,50E+07	2,97E+07	6,43E+06	4,00E+06	1,47E+07	4,43E+07	67%
	108	4.2	3,259259			2,70E+07			1,70E+07			
	108	4.3	4,444444			37000000			23000000			
11	120	4.1	2,37037	4,987654	3,022852	2,20E+07	3,43E+07	1,25E+07	1,00E+07	3,30E+07	6,73E+07	51%
	120	4.2	4,296296			3,40E+07			2,40E+07			
	120	4.3	8,296296			47000000			65000000			
12	132	4.1	1,851852	3,234568	1,408057	1,80E+07	2,57E+07	6,66E+06	7,00E+06	1,80E+07	4,37E+07	59%
	132	4.2	3,185185			3,00E+07			1,30E+07			
	132	4.3	4,666667			29000000			34000000			
13	144	4.1	2,148148	2,37037	1,091179	1,90E+07	1,97E+07	9,02E+06	1,00E+07	1,23E+07	3,20E+07	61%
	144	4.2	1,407407			1,10E+07			8,00E+06			
	144	4.3	3,555556			29000000			19000000			
14	156	4.1	3,851852	3,654321	0,186416	2,70E+07	2,63E+07	2,08E+06	2,50E+07	2,30E+07	4,93E+07	53%
	156	4.2	3,62963			2,80E+07			2,10E+07			
	156	4.3	3,481481			24000000			23000000			
15	168	4.1	2,888889	3,209877	0,555967	2,60E+07	2,60E+07	5,00E+06	1,30E+07	1,73E+07	4,33E+07	60%
	168	4.2	3,851852			3,10E+07			2,10E+07			
	168	4.3	2,888889			21000000			18000000			
16	180	4.1	2	2,691358	0,952459	1,50E+07	2,13E+07	1,27E+07	1,20E+07	1,50E+07	3,63E+07	59%
	180	4.2	3,777778			3,60E+07			1,50E+07			
	180	4.3	2,296296			13000000			18000000			
17	192	4.1	2,148148	2,345679	0,342133	1,40E+07	1,63E+07	4,93E+06	1,50E+07	1,53E+07	3,17E+07	52%
	192	4.2	2,148148			2,20E+07			7,00E+06			
	192	4.3	2,740741			13000000			24000000			
18	204	4.1	1,925926	1,901235	0,042767	1,20E+07	1,27E+07	1,15E+06	1,40E+07	1,30E+07	2,57E+07	49%
	204	4.2	1,925926			1,40E+07			1,20E+07			
	204	4.3	1,851852			12000000			13000000			
19	216	4.1	2,592593	4,518519	3,400153	1,80E+07	3,20E+07	2,25E+07	1,70E+07	2,90E+07	6,10E+07	52%
	216	4.2	8,444444			5,80E+07			5,60E+07			
	216	4.3	2,518519			20000000			14000000			
20	228	4.1	1,851852	1,925926	0,33945	1,40E+07	1,07E+07	3,06E+06	1,10E+07	1,53E+07	2,60E+07	41%
	228	4.2	1,62963			1,00E+07			1,20E+07			
	228	4.3	2,296296			8000000			23000000			
21	240	4.1	5,62963	6,024691	0,342133	4,90E+07	4,57E+07	2,89E+06	2,70E+07	3,57E+07	8,13E+07	56%
	240	4.2	6,222222			4,40E+07			4,00E+07			
	240	4.3	6,222222			4,40E+07			4,00E+07			

EXPERIMENTO			24 °BRIX			15 °C						
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão das Células (g/L)	Células Viáveis (cél/mL)	Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cél/mL)	Viabilidade Celular (%)
1	0	5.1	1,777778	1,876543	0,4526	2,20E+07	2,13E+07	4,04E+06	2,00E+06	4,00E+06	2,53E+07	84%
	0	5.2	2,37037			2,50E+07			7,00E+06			
	0	5.3	1,481481			1,70E+07			3,00E+06			
2	12	5.1	2,37037	2,864198	0,427667	3,20E+07	3,57E+07	3,21E+06	0,00E+00	3,00E+06	3,87E+07	92%
	12	5.2	3,111111			3,80E+07			4,00E+06			
	12	5.3	3,111111			3,70E+07			5,00E+06			
3	24	5.1	4,814815	4,864198	0,299367	6,50E+07	6,37E+07	3,21E+06	0,00E+00	2,00E+06	6,57E+07	97%
	24	5.2	5,185185			6,60E+07			4,00E+06			
	24	5.3	4,592593			6,00E+07			2,00E+06			
4	36	5.1	5,62963	5,876543	1,1315	7,30E+07	7,53E+07	1,46E+07	3,00E+06	4,00E+06	7,93E+07	95%
	36	5.2	4,888889			6,20E+07			4,00E+06			
	36	5.3	7,111111			9,10E+07			5,00E+06			
5	48	5.1	8,296296	7,876543	0,79205	1,09E+08	1,03E+08	7,77E+06	3,00E+06	3,67E+06	1,06E+08	97%
	48	5.2	8,37037			1,05E+08			8,00E+06			
	48	5.3	6,962963			9,40E+07			0,00E+00			
6	60	5.1	8,666667	7,753086	0,798948	1,14E+08	9,97E+07	1,29E+07	3,00E+06	5,00E+06	1,05E+08	95%
	60	5.2	7,185185			8,90E+07			8,00E+06			
	60	5.3	7,407407			9,60E+07			4,00E+06			
7	72	5.1	8,740741	7,333333	2,125035	1,14E+08	9,53E+07	2,98E+07	4,00E+06	3,67E+06	9,90E+07	96%
	72	5.2	4,888889			6,10E+07			5,00E+06			
	72	5.3	8,37037			1,11E+08			2,00E+06			
8	84	5.1	11,7037	7,777778	3,819666	1,49E+08	9,83E+07	4,86E+07	9,00E+06	6,67E+06	1,05E+08	94%
	84	5.2	4,074074			5,20E+07			3,00E+06			
	84	5.3	7,555556			9,40E+07			8,00E+06			
9	96	5.1	8,740741	7,580247	1,148347	1,07E+08	9,17E+07	1,72E+07	1,10E+07	1,07E+07	1,02E+08	90%
	96	5.2	6,444444			7,30E+07			1,40E+07			
	96	5.3	7,555556			9,50E+07			7,00E+06			
10	108	5.1	5,407407	5,407407	0,740741	6,30E+07	6,27E+07	9,50E+06	1,00E+07	1,03E+07	7,30E+07	86%
	108	5.2	4,666667			5,30E+07			1,00E+07			
	108	5.3	6,148148			7,20E+07			1,10E+07			
11	120	5.1	5,777778	6,271605	0,481956	7,00E+07	7,57E+07	4,93E+06	8,00E+06	9,00E+06	8,47E+07	89%
	120	5.2	6,296296			7,90E+07			6,00E+06			
	120	5.3	6,740741			7,80E+07			1,30E+07			
12	132	5.1	6,740741	6,691358	0,154197	7,40E+07	7,40E+07	1,00E+06	1,70E+07	1,63E+07	9,03E+07	82%
	132	5.2	6,814815			7,30E+07			1,90E+07			
	132	5.3	6,518519			7,50E+07			1,30E+07			
13	144	5.1	3,777778	5,407407	1,708528	4,20E+07	6,03E+07	1,96E+07	9,00E+06	1,27E+07	7,30E+07	83%
	144	5.2	7,185185			8,10E+07			1,60E+07			
	144	5.3	5,259259			5,80E+07			1,30E+07			
14	156	5.1	3,185185	4,864198	1,461595	3,40E+07	5,27E+07	1,72E+07	9,00E+06	1,30E+07	6,57E+07	80%
	156	5.2	5,555556			5,60E+07			1,90E+07			
	156	5.3	5,851852			6,80E+07			1,10E+07			
15	168	5.1	13,62963	8,518519	4,438885	1,47E+08	9,27E+07	4,71E+07	3,70E+07	2,23E+07	1,15E+08	81%
	168	5.2	5,62963			6,50E+07			1,10E+07			
	168	5.3	6,296296			6,60E+07			1,90E+07			
16	180	5.1	5,703704	5,160494	1,005699	5,30E+07	5,10E+07	1,11E+07	2,40E+07	1,87E+07	6,97E+07	73%
	180	5.2	5,777778			6,10E+07			1,70E+07			
	180	5.3	4			3,90E+07			1,50E+07			
17	192	5.1	3,62963	4,123457	0,434034	3,90E+07	4,40E+07	5,57E+06	1,00E+07	1,17E+07	5,57E+07	79%
	192	5.2	4,296296			4,30E+07			1,50E+07			
	192	5.3	4,444444			5,00E+07			1,00E+07			
18	204	5.1	5,851852	4,444444	1,246119	6,10E+07	4,67E+07	1,32E+07	1,80E+07	1,33E+07	6,00E+07	78%
	204	5.2	4			4,40E+07			1,00E+07			
	204	5.3	3,481481			3,50E+07			1,20E+07			
19	216	5.1	4,37037	3,82716	0,470434	4,70E+07	3,87E+07	7,37E+06	1,20E+07	1,30E+07	5,17E+07	75%
	216	5.2	3,555556			3,30E+07			1,50E+07			
	216	5.3	3,555556			3,60E+07			1,20E+07			
20	228	5.1	6,740741	4,740741	1,77932	6,60E+07	4,63E+07	1,70E+07	2,50E+07	1,77E+07	6,40E+07	72%
	228	5.2	3,333333			3,70E+07			8,00E+06			
	228	5.3	4,148148			3,60E+07			2,00E+07			
21	240	5.1	6,740741	4,740741	1,77932	6,60E+07	4,63E+07	1,70E+07	2,50E+07	1,77E+07	6,40E+07	72%
	240	5.2	3,333333			3,70E+07			8,00E+06			
	240	5.3	4,148148			3,60E+07			2,00E+07			

	EXPERIMENTO		24 °BRIX	Média das Células (g/L)	Desvio Padrão das Células (g/L)	22 °C	Média das Células Viáveis (cél/mL)	Desvio Padrão das Células Viáveis	Células não Viáveis (cél/mL)	Média das Células não Viáveis (cél/mL)	Células Totais (cél/mL)	Viabilidade Celular (%)
	Tempo (h)	AMOSTRA	Células (g/L)			Células Viáveis (cél/mL)						
1	0	5.1	1,333333	1,407407	0,412427	1,80E+07	1,77E+07	4,51E+06	0,00E+00	1,33E+06	1,90E+07	93%
	0	5.2	1,037037			1,30E+07			1,00E+06			
	0	5.3	1,851852			2,20E+07			3,00E+06			
2	12	5.1	3,62963	3,382716	0,26014	4,90E+07	4,33E+07	6,03E+06	0,00E+00	2,33E+06	4,57E+07	95%
	12	5.2	3,407407			4,40E+07			2,00E+06			
	12	5.3	3,111111			3,70E+07			5,00E+06			
3	24	5.1	6,148148	5,283951	1,433163	8,20E+07	7,00E+07	1,82E+07	1,00E+06	1,33E+06	7,13E+07	98%
	24	5.2	3,62963			4,90E+07			0,00E+00			
	24	5.3	6,074074			7,90E+07			3,00E+06			
4	36	5.1	4	6,765432	2,609819	5,10E+07	8,27E+07	3,06E+07	3,00E+06	8,67E+06	9,13E+07	91%
	36	5.2	9,185185			1,12E+08			1,20E+07			
	36	5.3	7,111111			8,50E+07			1,10E+07			
5	48	5.1	6,222222	6,395062	0,937947	7,50E+07	7,50E+07	2,00E+06	9,00E+06	1,13E+07	8,63E+07	87%
	48	5.2	5,555556			7,30E+07			2,00E+06			
	48	5.3	7,407407			7,70E+07			2,30E+07			
6	60	5.1	3,481481	5,62963	1,863666	4,50E+07	6,40E+07	1,65E+07	2,00E+06	1,20E+07	7,60E+07	84%
	60	5.2	6,814815			7,20E+07			2,00E+07			
	60	5.3	6,592593			7,50E+07			1,40E+07			
7	72	5.1	3,037037	4	1,044943	3,30E+07	4,50E+07	1,25E+07	8,00E+06	9,00E+06	5,40E+07	83%
	72	5.2	3,851852			4,40E+07			8,00E+06			
	72	5.3	5,111111			5,80E+07			1,10E+07			
8	84	5.1	2,296296	4,222222	1,667901	2,50E+07	4,37E+07	1,69E+07	6,00E+06	1,33E+07	5,70E+07	77%
	84	5.2	5,185185			5,80E+07			1,20E+07			
	84	5.3	5,185185			4,80E+07			2,20E+07			
9	96	5.1	2,296296	3,753086	1,262161	2,70E+07	3,83E+07	1,00E+07	4,00E+06	1,23E+07	5,07E+07	76%
	96	5.2	4,444444			4,20E+07			1,80E+07			
	96	5.3	4,518519			4,60E+07			1,50E+07			
10	108	5.1	4,37037	4,666667	0,450575	4,10E+07	4,63E+07	8,39E+06	1,80E+07	1,67E+07	6,30E+07	74%
	108	5.2	5,185185			5,60E+07			1,40E+07			
	108	5.3	4,444444			4,20E+07			1,80E+07			
11	120	5.1	2,148148	3,555556	1,285137	1,70E+07	3,27E+07	1,66E+07	1,20E+07	1,53E+07	4,80E+07	68%
	120	5.2	4,666667			5,00E+07			1,30E+07			
	120	5.3	3,851852			3,10E+07			2,10E+07			
12	132	5.1	2,444444	4,271605	1,625134	2,60E+07	3,80E+07	1,04E+07	7,00E+06	1,97E+07	5,77E+07	66%
	132	5.2	4,814815			4,30E+07			2,20E+07			
	132	5.3	5,555556			4,50E+07			3,00E+07			
13	144	5.1	2,518519	3,950617	1,76746	2,40E+07	3,03E+07	9,29E+06	1,00E+07	2,30E+07	5,33E+07	57%
	144	5.2	5,925926			4,10E+07			3,90E+07			
	144	5.3	3,407407			2,60E+07			2,00E+07			
14	156	5.1	4	5,506173	2,175223	2,90E+07	4,00E+07	1,82E+07	2,50E+07	3,43E+07	7,43E+07	54%
	156	5.2	8			6,10E+07			4,70E+07			
	156	5.3	4,518519			3,00E+07			3,10E+07			
15	168	5.1	2,37037	3,259259	0,854264	1,40E+07	2,50E+07	1,01E+07	1,80E+07	1,90E+07	4,40E+07	57%
	168	5.2	3,333333			3,40E+07			1,10E+07			
	168	5.3	4,074074			2,70E+07			2,80E+07			
16	180	5.1	2	3,481481	1,383818	1,90E+07	2,83E+07	9,02E+06	8,00E+06	1,87E+07	4,70E+07	60%
	180	5.2	3,703704			3,70E+07			1,30E+07			
	180	5.3	4,740741			2,90E+07			3,50E+07			
17	192	5.1	3,333333	3,160494	0,154197	3,50E+07	2,53E+07	8,50E+06	1,00E+07	1,73E+07	4,27E+07	59%
	192	5.2	3,037037			1,90E+07			2,20E+07			
	192	5.3	3,111111			2,20E+07			2,00E+07			
18	204	5.1	2,222222	2,814815	1,428689	1,60E+07	1,87E+07	4,62E+06	1,40E+07	1,93E+07	3,80E+07	49%
	204	5.2	4,444444			2,40E+07			3,60E+07			
	204	5.3	1,777778			1,60E+07			8,00E+06			
19	216	5.1	2,074074	3,530864	1,564934	1,50E+07	2,43E+07	9,02E+06	1,30E+07	2,33E+07	4,77E+07	51%
	216	5.2	3,333333			2,50E+07			2,00E+07			
	216	5.3	5,185185			3,30E+07			3,70E+07			
20	228	5.1	1,62963	2,222222	0,90115	1,20E+07	1,37E+07	7,64E+06	1,00E+07	1,63E+07	3,00E+07	46%
	228	5.2	1,777778			7,00E+06			1,70E+07			
	228	5.3	3,259259			2,20E+07			2,20E+07			
21	240	5.1	0,755556	0,387654	0,378165	6,00E+06	5,00E+06	1,41E+06	4,20E+06	2,85E+06	7,85E+06	64%
	240	5.2	0,407407			4,00E+06			1,50E+06			
	240	5.3	0									