

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FRANCISCA RAQUEL VIEIRA DE ARAÚJO

IMPACTO SENSORIAL DA MICROBIOTA NO *OFF-FLAVOUR* DA CERVEJA ARTESANAL SESSION IPA DURANTE O ARMAZENAMENTO

**FORTALEZA** 

#### FRANCISCA RAQUEL VIEIRA DE ARAÚJO

### IMPACTO SENSORIAL DA MICROBIOTA NO *OFF-FLAVOUR* DA CERVEJA ARTESANAL SESSION IPA DURANTE O ARMAZENAMENTO

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de Concentração: Análise Sensorial de Produtos de Origem Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues.

Coorientadora: Profa. Dra. Tatiana de Oliveira Lemos.

# Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca Universitária Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pela autora.

A689i Araújo, Francisca Raquel Vieira de.

Impacto sensorial da microbiota no off-flavour da cerveja artesanal Session Ipa durante o armazenamento / Francisca Raquel Vieira de Araújo. – 2019.

90 f.: il. Color

Dissertação (mestrado) — Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.

Orientação: Profa. Dra Maria do Carmo Passos Rodrigues. Co-Orientação: Profa. Dra.Tatiana de Oliveira Lemos.

1. Leveduras. 2. Bactérias. 3. Limiares hedônicos. 4. CATA. 5. Antioxidante. I. Título.

CDD 664

#### FRANCISCA RAQUEL VIEIRA DE ARAÚJO

## IMPACTO SENSORIAL DA MICROBIOTA NO *OFF-FLAVOUR* DA CERVEJA ARTESANAL SESSION IPA DURANTE O ARMAZENAMENTO

Dissertação apresentada a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Análise Sensorial de Produtos de Origem Vegetal.

	de Origem Vegetal.
Aprovada em:	/
	BANCA EXAMINADORA
	Profa. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues (Orientadora) Universidade Federal do Ceará (UFC)
	Profa. Dra. Tatiana de Oliveira Lemos (Co-Orientadora) Universidade Fedreal do Maranhão (UFMA)
	Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira Universidade Fedreal do Maranhão (UFMA)
	Profa. Dra. Ana Maria Souza de Araújo Universidade Fedreal do Ceará (UFC)
	Profa. Dra. Marjory de Lima Holanda Universidade Fedreal do Ceará (UFC)

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por tudo que sou e conquistei e por me permitir chegar até aqui. A Ele toda honra e toda glória.

Aos meus pais, Ireuda e Batista, por nunca medirem esforços para minha educação, me proporcionando uma ótima infância, formando os fundamentos do meu caráter. Por estarem sempre ao meu lado, me orientando, me guiando pelos melhores caminhos e vivendo esse sonho comigo e em meio as dificuldades, não permitindo que eu desistisse.

A Minha Orientadora, Maria do Carmo Passos Rodrigues e Co-Orientadora, Tatiana de Oliveira Lemos, pela orientação, pelos conselhos e amizade e, principalmente, por terem acreditado na idéia do projeto e pela confiança depositada em mim.

Ao meu irmão Rafael, companheiro de vida, por ser esta pessoa maravilhosa, de coração gigante e sempre estar disposto a me ajudar.

A minha Chefe, Sônia Coelho Abreu de Oliveira, do Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMBA) do Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (NUTEC), por sempre me incentivar e ensinar todos os dias, a ser uma Engenheira de Alimentos e Microbiologista, melhor.

Aos amigos, em especial, Ana Beatriz, Rosane, Alina, Nayara, Cleidiane, Bruna, Paulo, Thiago e Pedro Victor, pelo companheirismo, paciência, ensinamentos, pelos momentos de descontração e pelas boas rodas de conversas e cervejeiras. Obrigada pela amizade, atenção, carinho e por agregar valores a esse sonho.

Aos meus colegas de curso, em especial Ana Lídia e Maria de Fátima, por deixarem esta jornada mais leve e alegre.

À equipe do laboratório de Análise sensorial de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Ana Lídia, Jaqueline, Andressa, Luana, Antônio, Jady e Julinara, por me ajudar com os experimentos. Sem vocês não conseguiria concluir tudo a tempo.

Aos vários provadores, ao longo desses cinco meses, pela disponibilidade e paciência.

Aos nossos parceiros: Elementos Cervejaria Artesanal; Lev Teck- Tecnologia Viva; Laboratório de Biotecnologia e Produtos Naturais (LBPN) – UFC; à Profa. Dra. Ana Maria Souza de Araújo, do Departamento de Estatistica e Matemática Aplicada (DEMA) – UFC; à Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira Oliveira, do Departamento de Engenharia de Alimentos-UFMA, obrigada pela doação dos insumos da pesquisa e contribuição na realização de algumas análises.

Por último e não menos importante, obrigada Universidade Federal do Ceará, por me permitir viver essa incrível experiência.

"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível."

(Charles Chaplin)

#### **RESUMO**

A preferência dos consumidores de hoje mudou em relação à cerveja, uma vez que há uma crescente demanda por cervejas artesanais, que oferecem um amplo espectro de sabores e aromas encorpados. O termo off-flavour é usado para determinar um aroma ou sabor desagradável, indesejável na cerveja, resultante da degradação química ou microbiológica, dos componentes da bebida, durante seu processamento ou armazenamento. O objetivo da pesquisa foi avaliar a microbiota deteriorante presente na cerveja artesanal Session IPA e o seu impacto na produção e estabilidade de *off-flavours*, durante o seu armazenamento por 150 dias, sob duas condições de temperatura, e verificar o comportamento da atividade antioxidante e do teor dos compostos fenólicos totais. As análises microbiológicas, sensoriais e químicas foram realizadas na data de envase (T0) e em intervalos de 30 dias (T30, T60, T90, T120 e T150) para as cervejas armazenadas as temperaturas de 18°C (A) e 1°C (B). Para a quantificação da microbiota deteriorante da cerveja, foram realizadas as contagens de bactérias láticas e acéticas, leveduras Saccharomyces e não Saccharomyces pela metodologia de filtração em membrana. A metodologia dos limiares hedônicos (MLH) foi aplicada na determinação dos limiares de aceitação comprometida (LAC) e de rejeição (LR). O método Check-All-That-Apply (CATA) foi aplicado para entender a maneira como o consumidor descreve a cerveja artesanal. Utilizou-se a metodologia dos radicais DPPH e ABTS, na determinação da capacidade antioxidante da cerveja, e para o seu teor de compostos fenólicos totais, o método de Folin-Ciocalteau. Não houve crescimento de bactérias láticas e acéticas durante o armazenamento para as amostras A e B. Mas, houve crescimento de leveduras Saccharomyces, exceto em T30 (A), e não Saccharomyces, exceto em T30 e T120 (A) e em T150 (B). Com altas contagens para leveduras Saccharomyces e não Saccharomyces em T60 (A) e T120 (B). Os LAC foram identificados a amostra B atributos impressão global (T60) e sabor (T60). Já o LR, foi identificado para o atributo sabor (T60), apenas na amostra B. A atividade antioxidante das amostras não se alterou ao longo do tempo. No entanto, houve indicação de que os compostos fenólicos totais se alteraram com o tempo. Na pesquisa, observou-se uma possível associação entre a alta carga de leveduras e o surgimento do LAC das amostras.

Palavras-chave: Leveduras. Bactérias. Limiares hedônicos. CATA. Antioxidante.

#### **ABSTRACT**

The preference of today's consumers has changed compared to a beer industry, since there is a growing demand for craft beers, which can be found in a set of full-bodied flavors and aromas. The term off-flavor is used to determine an unpleasant, unpleasant taste in the beverage resulting from the chemical or microbiological degradation of the components of the beverage during its processing or storage. The aim of this research is of the research was to evaluate the deteriorating microbiota present in the Craft Beer Session IPA and its impact on the production and stability of off-flavors during its storage for 150 days under two temperature conditions, and to verify the behavior of the antioxidant activity and of the total phenolic compounds content. Microbiological, sensorial and chemical analyzes were performed at the date of packing (T0) and at 30 day intervals (T30, T60, T90, T120 and T150) for the beers stored at temperatures of 18°C (A) and 1°C (B). For the quantification of the deteriorating microbiota of the beer, the counts of lactic and acetic bacteria, yeasts Saccharomyces and not Saccharomyces were carried out by the methodology of filtration in membrane. The hedonic thresholds (MLH) methodology was applied in the determination of compromised acceptance (LAC) and rejection (LR) thresholds. The Check-All-That-Apply (CATA) method was applied to understand how the consumer describes craft beer. The methodology of the DPPH and ABTS radicals, in the determination of the antioxidant capacity of the beer, and for its content of total phenolic compounds, the Folin-Ciocalteau method was used. There was no growth of lactic and acetic bacteria during storage for samples A and B. But, there was growth of Saccharomyces yeasts, except in T30 (A), and not Saccharomyces, except in T30 and T120 (A) and in T150 (B). With high counts for yeasts Saccharomyces and not Saccharomyces in T60 (A) and T120 (B). The LAC were identified for sample B attributes overall impression (T60) and flavor (T60). LR was identified for the flavor attribute (T60) only in sample B. The antioxidant activity of the samples did not change over time. However, there was an indication that total phenolic compounds changed over time. In the research, a possible association between the high yeast load and the appearance of the LAC of the samples was observed.

**Keywords:** Yeast. Bacteria. Hedonic thresholds. CATA. Antioxidant.

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Ingredientes básicos para fabricação da cerveja			
Figura 2	– Processo simplificado de produção da cerveja artesanal	24		
Figura 3	- Principais pontos de contaminação por micro-organismos <sup>(*)</sup> , na			
	produção da cerveja	27		
Figura 4	- Roda de aromas e sabores- The Beer Flavour Wheel, desenvolvido por			
	Morten Meilgaard	32		
Figura 5	– Etapas das análises microbiológicas	40		
Figura 6	- TCLE e ficha aplicada para escala hedônica	42		
Figura 7	- Aplicação da análise sensorial	43		
Figura 8	– Ficha de aplicação do <i>Check-All-That-Apply</i> (CATA)	43		
Figura 9	- Comportamento das leveduras Saccharomyces nas amostras do grupo A			
	(18 °C) e do grupo B (1 °C) durante o armazenamento. O valor 0,			
	equivale à contagem <10 UFC/mL	46		
Figura 10	-Comportamento das leveduras não Saccharomyces nas amostras do			
	grupo A (18 °C) e do grupo B (1 °C) durante o armazenamento. O valor			
	0, equivale a contagem <10 UFC/mL	48		
Figura 11	- Médias da atividade antioxidante pelo radical DPPH da cerveja artesanal			
	armazenada a diferentes temperaturas, por 150 dias	49		
Figura 12	- Médias da atividade antioxidante pelo radical ABTS cerveja artesanal			
	armazenada a diferentes temperaturas, por 150 dias	50		
Figura 13	- Concentração dos compostos fenólicos totais da cerveja artesanal,			
	armazenada a diferentes temperaturas, por 150 dias	52		
Figura 14	- Gráfico do percentual de participação dos julgadores com relação ao			
	sexo, por dias de análise. *0 dias (Data do envase) *120 dias (Após o			
	envase)	53		
Figura 15	-Gráfico do percentual de participação dos julgadores por idade e por			
	dias de análise. *0 dias (Data do envase) *120 dias (Após o envase)	54		
Figura 16	- Percentual de frequência de consumo de cerveja artesanal por dias de			
	análise	55		
Figura 17	- Percentual de preferência dos julgadores por cerveja artesanal por dias			
	de análise. *0 dias (Data do envase) *120 dias (Após o envase)	56		

Figura 18	- Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias	<b>-</b> 0
	após o envase) para impressão global	58
Figura 19	- Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias	<b>5</b> 0
	após o envase) para sabor	59
Figura 20	<ul> <li>Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias</li> </ul>	<i>c</i> 1
	após o envase) para o aroma	61
Figura 21	- Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias	<i>(</i> 2
	envase) para o atributo corpo	62
Figura 22	- <i>Quantis</i> observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o	65
	atributo impressão global da amostra B (1 °C)	65
Figura 23	- <i>Quantis</i> observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo sabor da amostra B (1 °C)	65
E' 24		03
Figura 24	- <i>Quantis</i> observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo sabor da amostra A (18 °C)	66
F' 25		00
Figura 25	- <i>Quantis</i> observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo aroma da amostra A (18 °C)	66
Figure 26		00
Figura 26	- <i>Quantis</i> observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo aroma da amostra B (1 °C)	67
Figura 27	- Quantis observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o	
1 15414 27	atributo corpo da amostra A (18 °C)	67
Figura 28	- Quantis observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o	
118010 20	atributo corpo da amostra B (1 °C)	68
Figura 29	- Curva do modelo ajustado e valores de LR, para o atributo sabor da	
C	amostra B (1 °C)	69
Figura 30	– Diagrama de dispersão referente à amostra A (18 °C) associando ln	
	(levedura Saccharomyces) e LAC	69
Figura 31	– Diagrama de dispersão referente à amostra B (1 °C) associando ln	
	(levedura não Saccharomyces) e LAC	70
Figura 32	- Diagrama de dispersão referente a amostra A (18 °C) associando ln	
	(levedura não Saccharomyces) e LAC	70
Figura 33	- Diagrama de dispersão referente a amostra B (1 °C) associando ln	
	(levedura não Saccharomyces) e LAC	71

Figura 34	- Gráfico do percentual de variabilidade explicada por cada dimensão,	
	para amostra A (18 °C)	73
Figura 35	- Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 1 e 2 (a),	
	para amostra A (18 °C)	74
Figura 36	- Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 3 e 4 (b),	
	para amostra A (18 °C)	74
Figura 37	- Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 5 e 6 (c),	
	para amostra A (18 °C)	75
Figura 38	- Mapas de dimensões com relação aos indivíduos em MCA, para amostra	
	A (18 °C). Em (a) dimensões 1 e 2, (b) dimensões 3 e 4 e (c)	
	dimensões 5 e 6	75
Figura 39	- Gráfico do percentual de variabilidade explicada por cada dimensão com	
	relação à amostra B (1 °C)	76
Figura 40	- Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 1 e 2 (a)	76
Figura 41	- Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 3 e 4 (b)	77
Figura 42	– Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 5 e 6 (c)	77
Figura 43	- Mapas de dimensões com relação aos indivíduos em MCA, para amostra	
	B (1 °C). Em (a) dimensões 1 e 2, (b) dimensões 3 e 4 e (c) dimensões	
	5 e 6	78

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1	_	Análise de variância relativa ao modelo de regressão para a atividade	
		antioxidante pelo radical DPPH da cerveja artesanal	49
Tabela 2	_	Análise de Variância relativa ao modelo de regressão para a atividade	
		antioxidante pelo radical ABTS da cerveja artesanal	51
Tabela 3	_	Análise de Variância relativa ao modelo de regressão para a	
		determinação de compostos fenólicos totais da cerveja artesanal	51
Tabela 4	_	Estimativas dos parâmetros do modelo ajustado e resultados do teste t-	
		Student para a determinação de compostos fenólicos totais da cerveja	
		artesanal	52
Tabela 5	_	Resultados do teste de verossimilhança para o modelo de chances	
		proporcionais com efeito aleatório para o atributo impressão global	56
Tabela 6	_	Comparações entre os tempos para o atributo impressão global	57
Tabela 7	_	Resultados do teste de verossimilhança para o modelo de chances	
		proporcionais com efeito aleatório para o atributo sabor	58
Tabela 8	_	Comparações entre os tempos para o atributo sabor	58
Tabela 9	_	Resultados do teste de verossimilhança para o modelo de chances	
		proporcionais com efeito aleatório para o atributo aroma	59
Tabela 10	_	Comparações entre os tempos para o atributo aroma	60
Tabela 11	_	Resultado do teste de verossimilhança para o modelo de chances	
		proporcionais com efeito aleatório para o atributo corpo	61
Tabela 12	_	Comparações entre os tempos para o atributo corpo	62
Tabela 13	_	Comparação entre o tempo T1 (controle) e os demais tempos	
		(estímulos) para a amostra A	63
Tabela 14	_	Comparação entre o tempo T1 (controle) e os demais tempos	
		(estímulos) para a amostra B	64
Tabela 15	_	Limiares de Aceitação Comprometida (LAC) para cada atributo e	
		amostra	64
Tabela 16	_	Limiares de Rejeição (LR) para cada atributo e amostra	68
Tabela 17	_	Frequência dos descritores mais citados pelos julgadores para	
		descrever as amostras A (18 °C) e B (1 °C) nos 120 dias	72
Tabela 18	_	Resultados do teste $\chi^2$ com o tempo de armazenamento	72

Tabela 19	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Primeiro Mês	79
Tabela 20	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Primeiro Mês	79
Tabela 21	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Segundo Mês	80
Tabela 22	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Segundo Mês	81
Tabela 23	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Terceiro Mês	81
Tabela 24	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Terceiro Mês	82
Tabela 25	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Quarto Mês	82
Tabela 26	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Quarto Mês	83
Tabela 27	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Quinto Mês	83
Tabela 28	_	Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Quinto Mês	84

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

AmBev Companhia de Bebidas das Américas

ASBC American Society of Brewing Chemists

CATA *Check-all-that-aplly* 

DEMA Departamento de Estatistica e Matemática Aplicada

DPPH 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EBC European Brewery Convention

IPA India Pale Ale

LAC Limiar de Aceitação Comprometida

LBPN Laboratório de Biotecnologia e Produtos Naturais

LEVTECK Tecnologia Viva

LR Limiar de Rejeição

LRH Limiar de Rejeição Hedônica

MBAA Master Brewers Association of the America

MLH Metodologia dos Limiares Hedônicos

PLSR Partial Least Square Regression

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFC Universidade Federal do Ceará

UFMA Universidade Fedreal do Maranhão

#### SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	Cerveja: Aspectos gerais	18
2.2	Cerveja Artesanal	20
2.2.1	Movimento Cervejeiro Artesanal no Brasil	20
2.3	Estilos Cervejeiros	21
2.4	Processamento da Cerveja Artesanal	22
2.4.1	Lei da pureza-Reinheitsgebot	22
2.4.2	Matérias-primas	22
2.4.3	Produção	24
2.5	Micro-organismos deteriorantes na cerveja	26
2.5.1	Bactérias ácido-láticas	28
2.5.2	Bactérias acéticas	29
2.5.3	Leveduras selvagens	29
2.6	Qualidade sensorial	30
2.7	Análise sensorial	34
2.7.1	Metodologia dos Limiares Hedônicos	34
2.7.2	Check-all-that-apply (CATA)	35
2.8	Potencial antioxidante da cerveja artesanal	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1	Cerveja artesanal	38
3.2	Análises	38
3.2.1	Microbiológicas	38
3.2.1.1	Contagem de bactérias láticas e acéticas	38
3.2.1.2	Contagem de Leveduras Saccharomyces (cervejeiras)	39
3.2.1.3	Contagem de leveduras não Saccharomyces (selvagens)	39
3.2.2	Sensorial	40
3.2.2.1	Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH)	41
3.2.2.2	Check-All-That-Apply (CATA)	43
3.2.3	Atividade Antioxidante e teor de compostos fenólicos totais	44
3.2.3.1	DPPH	44

3.2.3.2	ABTS	44
3.2.3.3	Compostos fenólicos totais	45
3.2.4	Estatística	45
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1	Contagem de bactérias láticas e acéticas	46
4.2	Contagem de leveduras Saccharomyces	46
4.3	Contagem de leveduras não Saccharomyces	47
4.4	Atividade antioxidante	48
4.4.1	DPPH	48
4.4.2	ABTS	50
4.4.3	Compostos fenólicos totais	51
4.5	Perfil dos degustadores	53
4.5.1	Sexo dos julgadores	53
4.5.2	Idade dos julgadores	53
4.5.3	Percentual da frequência de consumo de cerveja artesanal	54
4.5.4	Grau de gostar de cervejas artesanais	55
4.6	Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH)	56
4.6.1	Impressão global	56
4.6.2	Sabor	58
4.6.3	Aroma	59
4.6.4	Corpo	61
4.6.5	Limiares hedônicos	62
4.6.5.1	Limiar de Aceitação Comprometida (LAC)	62
4.6.5.2	Limiar de Rejeição (LR)	68
4.6.6	Limiares hedônicos x Contagem de leveduras	69
4.7	Check-All-That-Apply (CATA)	71
4.7.1	Frequência dos descritores	71
4.7.2	Teste X <sup>2</sup> para tabelas de contingência	72
4.7.3	Análise de correspondência múltipla	73
4.7.4	Regressão por mínimos quadrados parciais	78
5	CONCLUSÃO	85
	REFERÊNCIAS	86

#### 1 INTRODUÇÃO

Bebida alcoólica mais antiga e consumida no mundo, a cerveja é a terceira bebida mais popular, ficando atrás apenas da água e do chá. Delicada, possui características sensoriais como aroma e sabor, que são responsáveis pela sua boa aceitação e qualidade. Segundo a legislação brasileira, cerveja é a bebida obtida da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte e da água potável, por ação da levedura, com adição do lúpulo (BRASIL, 2012; GAMA *et al.*, 2017; MORADO, 2017).

A preferência dos consumidores atuais mudou o cenário em relação à cerveja, uma vez que há uma crescente demanda por cervejas artesanais, que em muitos casos, não são submetidas à filtração ou pasteurização, mantendo suas características sensoriais originais, tais como sabores e aromas encorpados. A principal diferença entre as cervejas artesanais e as industriais está nos diferentes tipos de cervejas que podem ser produzidas, dependendo da escolha do malte, dos lúpulos e das cepas de leveduras utilizadas no processo produtivo das artesanais, tornando-as mais atraentes para o consumidor. A marca registrada das cervejarias artesanais são produções em pequena escala, que permitem a experimentação com ingredientes, muito mais fácil do que na produção industrial, realizada em grande escala (MASTANJEVIC *et al.*, 2019).

Dentre as cervejas, podemos destacar a *India Pale Ale* (IPA), um dos estilos mais consumidos no mundo. É um estilo de cerveja lupulada, amarga, pendendo a seco, com boa drinkabilidade, independente da forma, e classificada como uma cerveja de baixa fermentação (Ale). O aroma e o sabor de lúpulo são tipicamente, mais fortes nesse estilo, acentuando o amargor. O estilo IPA pode ser classificado em 3 categorias ou sub-estilos: Session, Standard e Double. O sub-estilo Session é caracterizado por possuir teor alcóolico variando entre 3,0 a 5,0%, boa drinkabilidade, refrescância e baixo amargor (MORADO, 2017).

Mistura complexa de compostos bioativos, a cerveja contém uma quantidade considerável de compostos polifenólicos que dependem da quantidade e da qualidade das matérias-primas, dos processos de fermentação, bem como da alteração durante o armazenamento (SANNA; PRETTI, 2015). Os compostos fenólicos presentes nas cervejas são provenientes do malte da cevada e do lúpulo. Estes possuem alta atividade antioxidante e estão diretamente associados à prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes, artrite e câncer, desde que exista um consumo equilibrado da bebida. Além dessas propriedades, boa parte desses compostos está associada à estabilidade coloidal e sabor da bebida, uma vez que

atuam como antioxidantes, preservando a qualidade sensorial do produto durante a sua vida útil (VOGEL, 2017; ZHAO; WATERHOUSE, 2019).

A cerveja foi considerada uma bebida segura durante séculos por constituir-se um meio desfavorável para o crescimento da maioria dos micro-organismos, devido aos seguintes fatores: baixo pH; baixo teor de oxigênio e nutrientes; alto teor de CO<sub>2</sub>; presença de etanol e de lúpulo. Apesar disso, alguns micro-organismos deteriorantes desenvolvem-se durante a produção e armazenamento da cerveja, causando turbidez, acidificação e o surgimento de aromas e sabores indesejáveis, conhecidos como *off-flavours*. Quando comparada a cerveja industrial, as cervejas artesanais estão mais susceptíveis à contaminação microbiana, já que não são filtradas e pasteurizadas. Entre os deteriorantes de cerveja, estão as bactérias láticas, bactérias acéticas e as *leveduras Saccharomyces* ou não *Saccharomyces* (PIACENTINI *et al.*, 2015; POVEDA *et al.*, 2017; VENTURINI FILHO, 2016).

O termo *off-flavour* é utilizado para designar um aroma ou sabor indesejável que resulta da degradação química e/ou microbiológica de componentes do produto, onde a presença deste em uma bebida é, geralmente, evidenciada por uma alteração no aroma ou sabor do produto, o que pode levar a sua rejeição pelo consumidor (TEIXEIRA, 2016; REITENBACH, 2016). Embora os instrumentos analíticos se configurem ferramentas úteis na detecção dos *off-flavours* na cerveja, estes não apresentam a capacidade de avaliar a percepção humana. Assim, é neste aspecto que a análise sensorial se apresenta como ferramenta necessária e indispensável para o controle da qualidade da cerveja (TEIXEIRA, 2016).

Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a microbiota deteriorante presente na cerveja artesanal *Session IPA* e o seu impacto na produção e estabilidade de *off-flavours*, durante o seu armazenamento por 150 dias, sob duas condições de temperatura, bem como determinar a atividade antioxidante e o teor dos compostos fenólicos totais na cerveja.

#### 2 REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 Cerveja: Aspectos gerais

A cerveja é a bebida alcóolica mais consumida mundialmente, e mais complexa, possuindo uma grande variedade de estilos. Com um registro histórico antigo, é considerada popular, pois une em um só produto: sabor, refrescância, teor alcoólico relativamente baixo e preços acessíveis, tornando-a socializante por excelência (MORADO, 2017).

Estudos indicam que a cerveja teve sua produção inicial por volta de 8000 a.C., desenvolvida em paralelo aos processos de fermentação de cereais. Na Antiguidade, iniciouse paralelo as culturas de milho, centeio e cevada, entre os povos da Suméria, Babilônia e Egito, sendo mais tarde produzida também por gregos e romanos. Em geral, a produção de cerveja era uma atividade caseira, a cargo das mulheres. Durante a produção, deixava-se a cevada de molho até germinar e, então, era moída grosseiramente, e moldada em bolos aos quais se adicionava a levedura. Após parcialmente assados, eram colocados em jarras com água e deixados a fermentar. O lúpulo, assim como outras ervas aromáticas, poderia ser adicionado à cerveja para corrigir as diferenças observadas no sabor (MEGA *et al.*, 2011; MELLO & SIQUEIRA, 2017).

Na Idade Média, a técnica de fabricação foi desenvolvida, e ocorria em mosteiros, o que teve um grande impacto sobre a cerveja fazendo com que ela adquirisse grande importância. Os monges tentaram melhorar o produto e deram grande importância ao uso do lúpulo, utilizado pela primeira vez pelos alemães. A ocorrência de diversas descobertas e acontecimentos, após a Idade Média permitiu uma melhoria na técnica e processo de fabricação da cerveja, além da sua difusão pelo mundo. Algumas dessas descobertas foram a invenção da máquina a vapor por James Watt, a descoberta da refrigeração artificial por Carl Linde, o desenvolvimento dos caminhos de ferro, permitindo assim a expansão deste produto, a invenção do método de pasteurização por Louis Pasteur, e por último a descoberta da levedura de baixa fermentação por *Emil Christian Hansen* (MORADO, 2017; TEXEIRA, 2016).

No Brasil, a cerveja chegou através da família real portuguesa em 1808, com a abertura dos portos. A Inglaterra foi a primeira a introduzir a cerveja na antiga colônia. Vale ressaltar, que alguns imigrantes começaram a produzir cerveja no país, e entre o final do século XIX e início do século XX, a cerveja inglesa praticamente, desapareceu do mercado

brasileiro, devido ao aumento dos impostos de importação gerados pelo governo brasileiro. O cenário cervejeiro brasileiro começou a mudar em 1888, quando surgiu a Companhia Antarctica Paulista e a Manufatura de Cerveja Brahma Villiger, as duas principais indústrias do país, as quais controlaram o mercado cervejeiro, abrindo filiais em todo o país, durante o século XX. Em 1999, ocorreu a fusão entre Brahma e Antártica, formando a conhecida AmBev (Companhia de Bebidas das Américas), na época a quinta maior empresa de bebidas do mundo (MEGA *et al.*, 2011; MELLO & SIQUEIRA, 2017).

Segundo a legislação brasileira, cerveja é a bebida obtida da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte e da água potável, por ação da levedura, com adição do lúpulo. As cervejas podem ser classificadas quanto: ao extrato primitivo, a cor, ao teor alcoólico, ao malte e a fermentação.

Quanto ao extrato primitivo, podem ser classificadas em: cerveja leve, a que apresentar extrato primitivo maior ou igual a 5% e menor do que 10,5%, em peso; cerveja comum, a que apresentar extrato primitivo maior ou igual a 10,5% e menor do que 12,5%, peso; cerveja extra, a que apresentar extrato primitivo maior ou igual a 12,5% e menor do que 14%, peso; cerveja forte, a que apresentar extrato primitivo maior ou igual 14%, em peso. Em relação a cor temos: cerveja clara, a que tiver cor correspondente a menos de 20 unidades EBC; cerveja escura, a que tiver cor correspondente a 20 ou mais unidades European Brewing Convention (EBC).

No que diz respeito ao teor alcoólico, são classificadas em: sem álcool, quando seu conteúdo em álcool for < 0,5% em volume, não sendo obrigatória a declaração no rotulo do conteúdo alcoólico; com álcool, quando seu conteúdo em álcool for maior ou igual 0,5% em volume, devendo obrigatoriamente, constar no rótulo a percentual de álcool em volume.

Considerando a proporção de malte de cevada temos: cerveja puro malte, aquela que possuir 100% de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares; cerveja, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior ou igual a 50%, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares; cerveja com o nome do vegetal predominante, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior do que 20% e menor do que 50%, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares. E quanto à fermentação, as cerveja são classificadas em de: baixa fermentação e alta fermentação (BRASIL, 2009).

#### 2.2 Cerveja Artesanal

A cerveja artesanal possui diferenças na sua formulação e no seu processo de produção, quando comparada com as cervejas industriais mais populares. Também, conhecida como cervejas especiais, consideradas de puro malte, sua produção é feita em pequena escala, lenta e de forma bem elaborada, com acompanhamento minucioso, visando uma maior qualidade do produto final. São utilizadas, matérias-primas de alta qualidade, sem adjuntos e aditivos químicos (como estabilizantes, corantes e aromatizantes) (CARVALHO, 2015; BREWERS ASSOCIATION, 2016).

Segundo Morado (2017), o termo cerveja artesanal surgiu nos Estados Unidos. Esse tipo de cerveja utiliza uma maior quantidade de malte, levando-se em conta, principalmente, características sensoriais, como sabor e aroma. Possuem a etapa de fermentação e maturação mais lentas, quando comparadas as das cervejas industriais e possuem um preço menos acessível. Desta forma, as cervejas artesanais, representam uma grande variedade de sabores e estão contribuindo para o surgimento de um novo perfil de consumidores (SALIMBENI *et al*, 2016).

O Brasil é o terceiro produtor de cerveja no mundo, ficando atrás dos Estados Unidos e da China. Com isso, o mercado das cervejas artesanais, tem ganhado espaço e uma crescente valorização devido a busca da sensorialidade, por parte dos brasileiros, impulsionando economicamente, não só os fabricantes desses produtos, mas também os fornecedores de insumos, matérias-primas e da própria atividade de vendas (SEBRAE, 2015).

#### 2.2.1 Movimento Cervejeiro Artesanal no Brasil

Ocorreu em três fases distintas, ganhando forca a cada etapa. A primeira fase ocorreu logo após o regime militar, por volta de 1986, com a chegada da cervejaria Bavarian Park em Curitiba, o momento era propício para as importações e várias cervejas importadas começaram a aparecer nas gôndolas de empórios especializados e assim começaram a surgir as primeiras microcervejarias. A segunda etapa foi marcada pela influência americana, com o surgimento dos bares-cervejarias, como a Colorado (1996), no qual foram apresentadas bebidas com diferentes características sensoriais, com diferentes aromas e sabores. A terceira etapa aconteceu com o surgimento das Associações dos Cervejeiros Artesanais (ACERVA), em todo país, que possibilitou a criação de pequenas cervejarias, aumentando a oferta do produto, impulsionando o mercado e valorizando o produto (ACERVA, 2016; MORADO, 2017; SALIMBENI *et al*, 2016).

#### 2.3 Estilos Cervejeiros

As cervejas podem ser agrupadas por cor, ingredientes, métodos de produção, origem dos estilos, teor alcoólico e outros (BREWERS ASSOCIATION, 2018). Morado (2017), classifica as cervejas, basicamente de acordo com o processo fermentativo: Lager, Ale, Lambic.

As cervejas Lager, utilizam leveduras de baixa fermentação (*Saccharomyces pastorianus*). Elas se depositam ao fundo do tanque fermentador e possuem um processo mais demorado, produzindo cervejas leves, claras, aromas suaves e de baixa carbonatação, devido à baixa temperatura do processamento (9 °C a 15 °C). O estilo cervejeiro mais conhecido desse tipo é a Pilsen, da República Tcheca, é a mais conhecida e consumida no mundo. A família de cervejas Lager é subdividida em grupos, o principal é o das Pale Lager (Pilsen, Dortmunder, Dry Lager, Helles e Spezial Lager). Seguido pela Bock (Doppelbock, Eisbock, Maibock, Weinzenbock) além de outros tipos como Vienna Lager, Märzen, Scwarzbier, Dunkel e Kellerbier (DENG *et al.*2017; SALIMBENI *et al.* 2016).

As cervejas do tipo Ale ou de alta fermentação tem temperatura de fermentação ideal entre 15 °C a 25 °C, utilizando cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Essas cervejas tendem a ser mais densas, escuras, sabor forte e ácido, turvas, com teor alcoólico elevado e mais aromáticas que as Lager. Vários são os subgrupos de cervejas pertencentes a esta família, os quais possuem origens diversas como as inglesas (Bitter, Porter, Pale Ale); a irlandesa (Stout); as alemãs (Weizenbier, Altbier, Kölsch) e a belga (*Trappist*) considerada um estilo diferencial de cerveja especial, pois se adiciona uma pequena quantidade de levedura na garrafa, sofrendo assim uma segunda maturação (VENTURINE FILHO, 2016).

Dentro dessa classificação, o estilo preferido dos brasileiros, *English India Pale Ale* (IPA), teve sua origem no século XVIII, quando era adicionado grandes quantidades de lúpulos, para aumentar a vida útil das cervejas que eram exportadas para Índia, durante sua ocupação pelos ingleses. Essa cerveja apresenta alta lupulagem, conferindo forte amargor, com alto teor alcoólico, frutada, com características de pão e notas leves de caramelo, identificando o sabor do malte (BJCP, 2015; MORADO, 2017; SEBRAE, 2015).

As cervejas do tipo Lambic, são provenientes da Bélgica, e a fermentação acontece a partir das leveduras selvagens (*Brettanomyces*) e outros micro-organismos do ambiente. Ocorre em temperaturas elevadas e normalmente, concentram-se na superfície. O processo dura em torno de dois anos e alguns ingredientes como frutas, são utilizadas no

processamento, conhecidas como *fruit beer*. Esse tipo de cerveja possui o valor comercial elevado e costuma ser bastante ácida (MORADO, 2017).

#### 2.4 Processamento da Cerveja Artesanal

#### 2.4.1 Lei da pureza-Reinheitsgebot

Essa lei se tornou a referência na padronização dos ingredientes para a fabricação de cervejas. Surgiu em Munique, estabelecida pelo Conselho da Cidade. As cervejas deveriam conter, apenas água, cevada e lúpulo na produção das cervejas, excluindo todos os outros ingredientes, como trigo, arroz, milho, ervas e adjuntos (SALIMBENI et al, 2016; MORADO, 2017).

#### 2.4.2 Matérias-primas

De acordo com Gonçalves (2017), as matérias-primas essenciais para a produção de cerveja são: água, malte, lúpulo e levedura (Figura 1).



Fonte: Alves (2013).

A água é o ingrediente principal, constituindo 90% da bebida. Deve ser livre de contaminações e cloro, para evitar aromas fenólicos. A água para cervejas Ale deve ter alta concentração de cálcio e para as cervejas Lager, baixa concentração desse mineral. Não deve conter ferro e seu pH deve ser em torno de 5,0 (GONÇALVES, 2017; RABELLO, 2009).

O malte é obtido da cevada através de um processo de maltagem, no qual é efetuado com o intuito de converter o amido em açúcares fermentáveis pela levedura, uma vez

que este processo ativa as enzimas do malte responsáveis por essa conversão. A maltagem pode ser conduzida de diversas formas, dando origem a diferentes tipos de malte, o que por consequência, dará origem a diferentes tipos de cerveja. O malte de cevada é o mais indicado na produção de cervejas, pois tem um alto teor de amido e enzima amilase. Ele contém proteínas que contribuem para estabilidades do corpo da cerva e baixo teor de gorduras que contribuem para a estabilidade do sabor e da espuma. Mas, alguns outros cereais, como trigo, aveia, arroz e milho, podem ser incorporados as formulações (MORADO, 2017; TEIXEIRA, 2016).

Podem também ser utilizados 'gritz', originários do milho ou do trigo, que não são sujeitos ao processo de maltagem. Outra das distinções em relação ao malte é o fato de o 'gritz' ter um elevado teor de amido, reduzindo a possibilidade de formação de precipitados na cerveja após a fermentação, evitando assim, a turvação do produto final. O 'gritz' de milho representa cerca de 30 a 40% de carboidratos presentes na cerveja industrial (RABELLO, 2009; GONÇALVES, 2017).

O lúpulo (*Humulus lupulus*), pertencente á família *Cannabacea*, natural de muitas zonas temperadas da Europa, dos Estados Unidos e da China. Considerado ingrediente essencial na produção da cerveja, utiliza-se a flor seca da planta fêmea do lúpulo, para conferir aroma, sabor e amargor ao produto, variando do herbal ao floral e do frutado ao condimentado. O lúpulo agrega valor nutricional a bebida, por conter vitaminas do complexo B, vitamina C, taninos e flavonoides. O lúpulo ainda auxilia na estabilidade da espuma, atua como conservante e tem propriedades assépticas reconhecidas, devido a presença das humolonas (LINHARES, 2016; MORADO, 2017; TEIXEIRA, 2016).

A levedura é o ingrediente responsável pela transformação do malte de cevada em cerveja, através do processo fermentativo, no qual em condições anaeróbias, consomem açúcares fermentáveis, como a maltose e produzem álcool e gás carbônico. As leveduras utilizadas pertencem exclusivamente, ao gênero *Saccharomyces* spp. As leveduras responsáveis pela alta fermentação são as *Saccharomyces cerevisiae*, as responsáveis pela baixa fermentação são *Saccharomyces uvarum e* as leveduras Selvagens, *Brettanomyces*, típicas para lambics (MEGA *et al.*, 2011; TEIXEIRA, 2016).

Além dos ingredientes básicos, outros ingredientes podem ser adicionados, a fim de reduzir o custo da bebida, modificar ou acrescentar sabor, cor, aroma, corpo, estabilidade e teor alcóolico. Um parte do malte de cevada pode ser substituído pelo trigo, aveia, centeio, milho e arroz, a fim de conferir textura, deixar a cerveja mais leve, clara e menos amarga.

Podem ser utilizados aditivos, como ervas aromáticas, frutas, temperos a fim de otimizar corpo, aroma e textura e favorecer uma segunda fermentação (MORADO, 2017).

#### 2.4.3 Produção

O processo de fabricação da cerveja é composto das seguintes etapas: mosturação clarificação, fervura, resfriamento, fermentação, maturação e envase (SALIBENI, 2016). A figura 2 mostra de forma resumida as etapas do processo.



Figura 2 – Processo simplificado de produção da cerveja artesanal

Fonte: Salibeni et al. (2016).

A mosturação, a clarificação e a fervura, fazem parte de uma etapa inicial do processo cervejeiro, onde ocorre a transformação do amido presente no malte e adjuntos em açúcares, formando o mosto, uma mistura líquida, usada na fabricação da cerveja. Conhecida como brassagem ou produção do mosto, baseia-se nas seguintes operações (SOUZA et al., 2017; MORADO, 2017; TEXEIRA, 2016):

1. Moagem do malte e dos adjuntos ocorre em moinhos de rolos ou martelo, onde há ruptura da casca e liberação do amido para que ocorra a ação enzimática em todos os constituintes. É uma etapa criteriosa, pois uma moagem muito fina gera cascas muito finas, dificultando a ação da enzima sobre o substrato.

- 2. Mosturação, é considerada o processo de transformação das matérias-primas em mosto, no qual possui a finalidade de recuperar no mosto a maior quantidade possível de extrato da mistura do malte ou a partir do malte e adjuntos. Adiciona-se água ao malte moído, submetido a determinados tempo e temperatura, resultando em uma solução adocicada, chamada de mosto, que ainda contem bagaço do malte. Inicialmente, trabalham a temperatura baixa e vão aquecendo por até 75 °C, com o objetivo de gelificar o amido e facilitar a hidrólise deste por parte das enzimas do malte. Quando a massa atingir de 60 a 72 °C ocorre os repousos de sacarificação. A alfa-amilase quebra o amido em dextrina, responsáveis pelo 'corpo' da cerveja, esta possui atividade ótima entre 60 a 65 °C. A beta-amilases quebra o amido em açúcares menores utilizados na fermentação, como a maltose, sua temperatura de atuação varia entre 60 a 65 °C. Entre temperaturas de 76 e 78 °C, acontece a inativação enzimática, pois com o trabalho das enzimas na sacarificação necessita-se cessar a atividade para estabilizar o resultado desejado, impedindo que estas enzimas continuem atuando na filtração do mosto.
- 3. Clarificação ou filtração do mosto que consiste em separar o mosto líquido do bagaço do malte, para essa operação normalmente é utilizada a tina de clarificação, a qual possui um fundo falso, que sustenta o elemento filtrante, que são as cascas do malte ou ainda pode ser utilizado o filtro em placas, o qual usa câmaras verticais, formada por placas intercaladas.
- 4. Adição do lúpulo, ocorre em duas etapas, a primeira confere amargor e a segunda confere os aromas herbais, florais e condimentados.
- 5. Fervura do mosto, nessa operação acontece a adição do lúpulo, que tem por finalidade solubilização os compostos aromáticos e os compostos responsáveis pelo amargor do lúpulo, a esterilização do mosto, para que não haja micro-organismos contaminantes que venham competir com as leveduras pelos nutrientes. É nessa etapa, que ocorre a caramelização, devido à reação dos açúcares e aminoácidos, dando cor e sabor à cerveja. A temperatura de fervura do mosto é 100 °C, ideal para concentrar o mosto e deixá-lo próprio para a fermentação.
- 6. Resfriamento, o mosto deve ser resfriado rapidamente na temperatura ideal para fermentação. Essa etapa pode ser realizada em trocadores de calor em placa.

A fermentação é a etapa mais importante do processo produtivo, pois é nela que as leveduras consomem os carboidratos presentes no mosto, produzindo etanol e CO<sub>2</sub>, formando a cerveja. Outros compostos são formados, como subprodutos do metabolismo da levedura, podendo ter aroma agradável ou desagradável. Sendo assim, durante o consumo dos nutrientes, as leveduras se multiplicam através das reações biológicas e assim, irão produzir a

cerveja. Uma fermentação normal se processa nos seguintes estágios, Fase lag: etapa onde ocorre o reconhecimento do meio. A levedura realiza várias reações bioquímicas a fim de ter acesso a maior quantidade de oxigênio dissolvido e carboidratos fermentáveis. Nessa fase, a levedura produz glicogênio. Fase log: ocorre a multiplicação celular. O oxigênio dissolvido ali presente, é utilizado para produção de esteróis, ideal para absorção de nutrientes pela parede celular das leveduras. Nessa etapa são produzidos os aromas das cervejas. Fase de Low Krausen: etapa em que o processo se torna anaeróbico, pois o oxigênio já foi todo consumido. Ocorre alto metabolismo de aminoácidos e açucares. Fase de High Krausen: Somente nessa etapa que as leveduras lagers produzem os açucares. Fase de Late Krausen: as leveduras irão converter os açucares mais complexos. Fase estacionária: é a última fase, ocorrendo quando já não existem açucares fermentáveis na cerveja, ocasionando uma redução no metabolismo da levedura. Esta etapa ocorre nos tanques de fermentação ou dornas e dura em média de 7-8 dias, dependendo do tipo de fermento (Ale ou Lager) e da sua quantidade dosada, da concentração e qualidade do mosto e da temperatura de fermentação. leveduras Ale, o recomendável é a temperatura entre 15 °C e 25 °C. Para leveduras Lager entre 9 °C e 15 °C (GONÇALVES, 2017; SILVA, 2019; TEIXEIRA, 2016).

A maturação ocorre logo após a retirada das leveduras, ocorrendo em temperaturas inferiores a de fermentação. É nessa etapa que ocorrem reações físicoquímica que transformam o aspecto visual da cerveja, produzindo aromas e sabores. Quando essa etapa se inicia, grande parte dos açúcares, já tem sido transformada em gás carbônico, glicerol, ácido acético, álcoois superiores e ésteres. Aqui, podem ser adicionadas especiarias, frutas e outros ingredientes para conferir aroma a bebida. Nessa etapa, ocorre a carbonatação natural da bebida, pelo efeito da compressão do tanque de maturação pelo gás carbônico produzido na fermentação (FERREIRA *et al.*, 2011; MORADO, 2017).

No envase, a cerveja segue dos tanques para a enchedora, a qual dispensa a bebida nas embalagens previamente higienizadas. Em seguida, as embalagens são tampadas ou recravadas. O engarrafamento é crítico para o controle de qualidade a fim de evitar contaminações (GONÇALVES, 2017).

#### 2.5 Micro-organismos deteriorantes na cerveja

A cerveja é considerada uma bebida microbiologicamente estável, um meio totalmente desfavorável ao crescimento de micro-organismo deteriorantes, devido ao seu

baixo pH, presença de gás carbônico, etanol e lúpulo. Mesmo assim, alguns micro-organimos deteriorantes podem se multiplicar causando alterações no produto final, como aumento da turbidez, aromas e sabores desagradáveis mais conhecidos como *off-flavours* (SOUZA *et al.*, 2017; LINHARES, 2016).

Segundo Vriesekoop *et al.* (2012), o teor alcoólico ou etanol presente na cerveja, causa danos à membrana celular dos micro-organismos, inibindo seu metabolismo. O pH ácido inibe a atividade enzimática. O lúpulo atua nas bactérias Gram-positivas, inativando as funções da membrana celular. O dióxido de carbono, além de criar condições anaeróbicas, inativa as enzimas e afeta a membrana celular dos micro-organismos.

Existem duas fontes de contaminação, a primária, que ocorre através das matériasprimas (malte, água e levedura), adjuntos e embalagens, que é considerada a mais crítica, colocando em risco a fermentação, e a secundária, proveniente do contato da bebida com o oxigênio durante o envase, contaminação dos equipamentos e ambiente de produção (SUZUKI, 2011).

A Figura 3 mostra os principais pontos de contaminação no processo de elaboração da cerveja.

Malte\* e água\*

Lúpulo\*

Malte moido

Mosturação

Filtração

Fervura do aeração\* e resfiramento do mosto

Estabilização biológica/envasamento

Barris\*

Pasteurizador // flash
(trocador de placas)

Fermentação

Maturação

Maturação

Fermentação

Maturação

Figura 3 – Principais pontos de contaminação por microorganismos<sup>(\*)</sup>, na produção da cerveja

Fonte: Dragone et al. (2007).

As matérias-primas como malte, lúpulo e água, e os tanques da sala de preparo do mosto são pontos potenciais para a contaminação microbiana. As garrafas e barris que retornam do comércio também podem apresentar elevada contaminação, uma vez que contêm pequenas quantidades de cerveja onde pode ter ocorrido multiplicação microbiana durante

longos períodos de tempo. Micro-organismos presentes no ar podem contaminar a cerveja na sala de envase durante o transporte das garrafas vazias, desde a lavadora de garrafas até a enchedora e a partir da enchedora até o local onde a garrafa é tampada (DRAGONE *et al.*, 2007).

Alguns micro-organismos são conhecidos como deteriorantes da cerveja, são eles: bactérias ácido-láticas, bactérias acéticas e leveduras selvagens (SOUZA *et al.*, 2017).

#### 2.5.1 Bactérias ácido-láticas

As bactérias ácido-láticas são Gram-positivas não esporuladas, nas quais produzem ácido lático como produto principal do seu metabolismo, sendo em sua maioria anaeróbicas. Entre elas pode-se destacar os gêneros *Lactobacillus* e *Pediococcus*, as quais são consideradas as mais prejudiciais para as cervejarias modernas. Os *Lactobacillus* podem variar sua forma entre bacilos e cocos, possuindo uma grande variedade de espécies. O *Lactobacillus brevis* é a espécie mais importante de *Lactobacillus* deteriorante da cerveja. Consiste em uma bactéria heterofermentativa estrita, ou seja, transforma o açúcar em ácido lático, CO<sub>2</sub> e etanol. Além disso, apresenta um crescimento ótimo a 30 °C e pH entre 4 e 5, e que pode causar superatenuação na cerveja devido à capacidade de fermentar dextrinas e amido.

Outra espécie contaminante da cerveja é *Lactobacillus*. *lindneri* presente em 15 a 25% dos casos de contaminação bacteriana, pois é resistente aos compostos do lúpulo e seu crescimento ótimo ocorre de 19 a 23 °C. As cepas dessa espécie podem ser encontradas no inóculo de leveduras e durante a fermentação do mosto e maturação da cerveja. Já as bactérias do gênero *Pediococcus*, são homofermentativos, produzem apenas ácido lático como produto final e crescem em pares ou tétrades.

Entre as bactérias desse gênero, pode-se citar *P. damnosus*, como o mais comum e prejudicial, presente em cerca de 90% dos casos de contaminação de cervejas por *Pediococcus*. Esta espécie se multiplica bem durante as etapas de fermentação, maturação e no produto acabado, mas raramente no inóculo de leveduras. Em contraste, *P. inopinatus* é frequentemente detectado nas leveduras para inoculação, mas raramente nas outras etapas da fermentação (DRAGONE *et al.*, 2007).

Na cerveja, se presentes, as bactérias láticas ocasionam turbidez, acidez e odores desagradáveis devido à formação de produtos metabólicos. O odor desagradável mais

importante associado a esse tipo de bactéria é doce, amanteigado ou de mel, característico do diacetil (2,3-butanodiona) e/ou da dicetona vicinal (2,3-pentanodiona), segundo Dragone *et al.* (2007).

#### 2.5.2 Bactérias acéticas

São bactérias Gram-negativas, de forma elipsoidal a alongada (bastonetes). As bactérias acéticas apresentam mobilidade devido à presença de flagelos polares ou peritríquios. Este grupo de bactérias apresenta um metabolismo aeróbio obrigatório. Crescem em um pH ótimo entre 5,0 e 6,0, contudo podem crescer em pH mais reduzidos, nomeadamente entre 3,0 e 4,0 e sua temperatura ótima de crescimento situa-se entre 25°C e 30°C. Esse tipo de micro-organismo pode surgir em alimentos açucarados, alcoólicos e um pouco ácidos, tais como: frutos, cerveja, vinho, cidra, vinagre e mel. Nestes meios, oxidam açúcares e álcoois resultando na acumulação de ácidos orgânicos como produtos finais (MARTINS, 2012).

A indústria cervejeira tem dado grande atenção às *Gluconobacter* e *Acetobacter*, nas quais são gêneros de bactérias capazes de converter etanol em ácido acético, resultando consequentemente, em um desagradável odor de vinagre. A incidência de *Acetobacter spp*. são tipicamente associada à entrada de oxigênio e são mais prováveis de ocorrerem em linhas de enchimento em cervejarias e linhas de torneiras em bares. Essas bactérias são resistentes aos compostos amargos do lúpulo, ácidos e etanol e podem contaminar a cerveja com a presença de ar no espaço vazio (*headspace*) de garrafas e latas, como resultado de condições inadequadas de envasamento (DRAGONE *et al.*, 2007).

#### 2.5.3 Leveduras selvagens

São consideradas qualquer tipo de levedura diferente da espécie utilizada na produção da cerveja. Podem ser originadas de diferentes fontes e são de difícil detecção, e ao contrário das bactérias, não são susceptíveis à lavagem com ácido (OLIVEIRA, 2011).

As leveduras selvagens são divididas em *Saccharomyces* e não *Saccharomyces*. As leveduras *Saccharomyces* incluem as estirpes de *S. cerevisiae*, tendo como principais cepas as espécies *S. diastaticus*, *S. pastorianus*, *S. ellipsoideus e S. willianus*, nas quais são produtoras de esporos. Esse tipo de levedura produz aromas fenólicos, devido a capacidade do micro-organismo de descarboxilar os ácidos fenólicos, além de produzir glucomilases, que

agem no amido e causam superatenuação na cerveja final. Já as leveduras não *Saccharomyces*, incluem os gêneros *Brettanomyces*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Torulopsis*, *Dekkera*, e algumas espécies de *Candida* e de *Pichia*, sendo as do gênero *Saccharomyces* as mais prejudiciais. As leveduras selvagens podem causar turbidez, desenvolvimento de *off-flavours* ou aromas e sabores desagradáveis (ex. sulfurosos SO<sub>2</sub>, fenólicos e diacetil) e formação de película na superfície da cerveja. Ainda existem às leveduras conhecidas como 'Killer' ou assassinas, as quais produzem uma proteína letal nociva as leveduras utilizadas na fermentação (DRAGONE *et al.*, 2007; FERNANDES, 2012; OLANIRAM *et al.*, 2015).

Normalmente, a contaminação por leveduras selvagens interfere menos na qualidade do produto do que a ocasionada por bactérias, porém é mais complicado de identifica-las, justamente por não conseguir diferenciá-las da leveduras cervejeiras.

#### 2.6 Qualidade sensorial

Ao degustar uma cerveja, algumas características devem ser observadas, como: aparência, aroma, teor alcoólico e amargor. A cor, a turbidez e a espuma, englobam o que corresponde a aparência. A cor é resultado dos ingredientes usados (cereais, maltes e adjuntos). A turbidez da cerveja refere-se à quantidade de partículas sólidas em suspensão, em especial as leveduras. Assim as cervejas filtradas são mais límpidas do que as cervejas não filtradas.

Com relação à espuma, deve ser cremosa, densa ou esparsa, com presença de bolhas, grandes ou pequenas. Uma boa cerveja deve exalar um aroma característico, pelo qual são perceptíveis a presença do malte e da fermentação, complementado pelo odor herbal do lúpulo. O teor alcoólico da cerveja favorece o sabor e intensifica certos aromas e perfumes, ajudando a volatilizá-los. Em grandes concentrações, pode mascarar sabores e aromas, além de dar a sensação de acidez. O amargor é fundamental para a cerveja, proveniente de substâncias químicas (isoalfa-ácidos) presentes no lúpulo (MORADO, 2017).

O *flavour* é a sensação produzida por qualquer material colocado na boca, percebido pelo gosto juntamente com o olfato, no qual também é denominado de sabor (DUTCOSKY, 2013). A cerveja tem vários componentes voláteis diferentes em concentrações diversas, que são desejáveis, outros toleráveis e outros indesejáveis. Quando esses componentes indesejáveis tornam-se perceptíveis e desagradáveis, é dito que a cerveja está com 'defeito' ou possui um *off-flavour*, ou ainda, odores indesejáveis (MORADO, 2017).

O termo *off-flavour* é usado para determinar um aroma ou sabor desagradável, indesejável na cerveja, resultante da degradação química ou microbiológica, dos componentes da bebida, durante seu processamento ou armazenamento. Esses compostos podem ser incorporados através de contaminantes presentes nas matérias-primas usadas na produção da bebida, como, por exemplo, na água ou no malte. Podem também migrar para a bebida devido a presença de contaminantes presentes em equipamentos do processo ou materiais de embalagens, além de ser gerados pela degradação dos componentes da cerveja, em vista da oxidação, exposição à luz ou calor.

A oxidação, chamada também de sabor rançoso ou mofado, geralmente, ocorre entre a etapa de filtração até a venda do produto. Ocorre quando há exposição a luz, e a bebida não é armazenada em frasco âmbar (LINHARES, 2016; MORADO, 2017; REITENBACH, 2016).

Ao longo dos anos têm sido caracterizadas várias vias que levam à formação da maioria dos compostos capazes de estimular os receptores nervosos que se encontram nas cavidades bucal e nasal dos seres humanos e provocar as sensações que normalmente, se tem quando bebe-se cerveja.

Cerca de 800 compostos diferentes são atualmente conhecidos na cerveja. Levando-se em consideração que existe um grande número de tipos de cerveja, todas possuindo características particulares, a caracterização sensorial de uma cerveja obriga à utilização de um conjunto de descritores sensoriais gerais e próprios para cervejas.

O conjunto de descritores em questão está exemplificado na Figura 4, que se encontra ilustrada uma roda de aromas e sabores, que serve de instrumento para a caracterização do conjunto de sensações gustativas e olfativas que podem ser sentidas por qualquer julgador de cerveja experiente (TEIXEIRA, 2016; GUIDO, 2004).

O conjunto de descritores em questão foi compilado por Morten Meilgaard na década de 1970 e ilustrada numa roda de aromas e sabores. Esta roda dos aromas e sabores foi posteriormente adotada e normalizada pela *European Brewery Convention* (EBC), pelo *American Society of Brewing Chemists* (ASBC) e pelo *Master Brewers Association of the America* (MBAA) – como *The Flavor Wheel* (Figura 4).



Figura 4 – Roda de aromas e sabores- *The Beer Flavour Wheel*, desenvolvido por Morten Meilgaard

Fonte: Meilgaard (1987).

Os *off-flavours* e *on-flavours* (descritores de sabor e aroma desejáveis), considerados importantes e característicos para a cerveja, podendo ser detectados através de uma equipe sensorial treinada da indústria, nos quais são responsáveis por avaliar três diferentes fases da produção da cerveja: com o material de produção, no processo e no produto final. As etapas incluem controle de entrada de matérias-primas, embalagens, materiais auxiliares, transferência de produto do tanque de fermentação para o tanque de maturação e águas do processo cervejeiro (LINHARES, 2016).

O Quadro 1, resume os principais *off-flavours* de origem microbiana e química, presentes tanto na cerveja industrial, como na artesanal, em qual etapa do processamento podem ser identificados, seus principais termos associados e a sua importância.

Quadro 1 – Principais *off-flavours* de origem microbiana e química do processo cervejeiro. 2017

Off-flavours	Origem	Termos associados	Possíveis causas
Acetaldeído	Fermentação	Maçã verde/Solvente/Vinho branco	Incorporação de oxigênio no processo ou contaminação por bactérias.
Acetato de	Brassagem/	Banana	Temperatura de fermentação
isoamila	Fermentação		elevada; stress da levedura; problemas na oxigenação do mosto e pré-fermentação.
Acético	Fermentação	Vinagre	Contaminação pelas bactérias acéticas (Acetobacter e Gluconobacter).
Acido	Brassagem/ Fermentação	Acido/Limão	Contaminação por bactérias. Matérias-primas contaminadas.
Acido caprílico	Fermentação	Queijo de cabra/Sabão/	Produzido por leveduras devido ao baixo pH durante a

		Sabão de coco/Cera	fermentação.
Acido isovalérico	Brassagem	Queijo parmesão	Oxidação dos alfa-ácidos dos lúpulos. Geralmente vem de lúpulos velhos ou conservados inadequadamente.
Adstringente	Brassagem	Caqui/Banana verde/Boca seca	Polifenóis, os quais podem derivar do malte ou dos lúpulos. Contaminação por bactérias ou leveduras selvagens.
Butírico	Brassagem	Vômito de bebe/Leite azedo	Contaminação por bactérias durante a produção do mosto. Baixo pH favorece essa contaminação.
Caramelo	Brassagem/Pasteurizacão/ Armazenamento	Bala toffee/Algodão doce	Adição de açúcar caramelizado ou faberbier. Pode-se formar pela reação de Maillard durante a pasteurização e armazenamento.
Diacetil	Fermentação	Manteiga/Caramelo/ Toffee	Fervura interrompida ou fraca , baixa temperatura durante a fermentação ou contaminação bacteriana.
2-fenil-etanol	Fermentação	Floral/Rosas	Produzido pela levedura durante a fermentação
Fenólico	Fermentação	Cravo/Tempero/ Especiaria/Picante	Produzido por leveduras selvagens ou especiais.
Hexoato de etila	Fermentação	Maçã/Anis/Ester/Frutado	Produzido pelas leveduras. Sabor fora dos padrões quando em altas concentrações (> 0,2 mg/L).
Lático	Fermentação/Maturação/ Envase	Acido/Iogurte	Produzido pela levedura durante a fermentação e também por contaminação por bactérias durante a fermentação, maturação e envase.
Lightstruck	Armazenamento	Gambá/Suor	Degradação da cerveja por exposição a luz do sol ou mesmo artificial.
Mercaptana	Fermentação	Lixo/Esgoto	Autólise da levedura ou contaminação por bactérias anaeróbias.
Metálico	Todas as etapas do processo	Ferro/Metálico/Amalgama	Contato com elementos metálicos durante a fabricação ou alto nível de íons metálicos na água utilizada.
Mofado	Brassagem	Bolor/Fungo/Roupa guardada	Contaminação externa das matérias-primas e/ou materiais de embalagens com cloroanisol.
Papelão	Armazenamento	Papelão molhado	Exposição ao oxigênio ou condições de fermentação inadequadas ou armazenamento inadequado.

Sulfetos dimetila	Brassagem/Fermentação	Vegetais cozidos (milho,	Fervura deficiente do
(DMS)		aipo, repolho ou	mosto ou resfriamento prolongado do mosto ou
		nabo)/Mariscos	contaminação por
			bactérias durante a
			fermentação.
$H_2S$	Fermentação/Maturação	Ovo cozido/Ovo	Produzido pelas leveduras
		podre/Enxofre/Fosforo	ou pela autólise das
		queimado	leveduras ou por
			contaminação bacteriana.
Terra	Fermentação/Maturação	Terra/Terra	Contaminação microbiana
		molhada/Terra filtrante	da água ou das paredes
			úmidas das adegas.

Fonte: Silva (2013).

#### 2.7 Análise sensorial

A análise sensorial é utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos, percebidos pela visão, olfato, sabor e audição. Na indústria de alimentos é amplamente utilizada no controle do desenvolvimento de novos produtos, na avaliação das alterações nas matérias-primas ou no produto final e assim ter controle da estabilidade e da vida de prateleira do produto (TEXEIRA, 2009).

Entre os métodos sensoriais, existem os afetivos ou subjetivos, que avaliam a preferência e aceitabilidade de um produto pelos consumidores. São agrupados em, qualitativos e quantitativos. Os testes qualitativos avaliam de forma subjetiva as respostas de uma pequena amostra de consumidores, com relação às propriedades sensoriais de um produto, expectativas com relação à embalagem ou uma pesquisa sobre seus hábitos. Como exemplo, podemos citar o grupo focal, entrevistas de profundidade e técnicas etnográficas. É importante ressaltar, que nesse tipo de teste, não há análise estatística de dados (BURKERT, 2013).

Os testes quantitativos avaliam uma grande variedade de respostas dos consumidores, com relação aos atributos específicos para cada produto. Como exemplo, temos a escala hedônica, composta por uma escala estruturada de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo) utilizada nos estudos de aceitação. Outro exemplo é o *Check-all-that-aplly* (CATA), metodologia utilizada para o consumidor descrever o produto estudado (DUTCOSKY, 2013).

# 2.7.1 Metodologia dos Limiares Hedônicos

Uma das características do sistema sensorial humano mencionada em análise sensorial foi o limiar de detecção (*detectionou absolute threshold*). Define-se este limiar como sendo o limite mínimo de um estímulo capaz de gerar uma sensação em um indivíduo; abaixo deste limite, nenhuma sensação é percebida pelo sistema sensorial (LAWLESS; HEYMANN, 2010; SOUZA, 2017).

São quatro os limiares clássicos: detecção, reconhecimento, diferença e terminal. O limiar de detecção é a menor intensidade de um estímulo que pode ser percebida por um indivíduo. O estímulo é percebido, porém, não é possível defini-lo. A intensidade de estímulo capaz de provocar a identificação de sua categoria (gosto primário, por exemplo) corresponde ao limiar de reconhecimento. Já o limiar de diferença é definido como a menor variação de um estímulo capaz de provocar alteração na intensidade percebida deste estímulo, ou seja, a intensidade que deve ser acrescentada ou reduzida para que este estímulo seja percebido como diferente do anterior. O limiar terminal é referente à maior intensidade do estímulo que pode ser percebida, sua intensidade é tão alta que nenhum acréscimo será percebido pelo indivíduo, devido a sua saturação (SOUZA, 2017).

Dentre os limiares citados acima, podemos destacar o limiar de detecção utilizado em análise sensorial de alimentos. Usado para estipular limites de concentrações de substâncias desejáveis ou indesejáveis nos alimentos (SOUZA, 2017).

Diante da necessidade de limiares que determinam as intensidades de estímulos que inferem sobre aceitação e rejeição sensorial de produtos, Lima Filho (2015) propôs a metodologia dos limiares hedônicos (MLH), na qual permite estimular o limiar de aceitação comprometida (LAC) e o limiar de rejeição hedônica (LRH). O LAC indica a intensidade de estímulo na qual a aceitação sensorial do produto começa a ser significativamente inferior à amostra controle. O LRH se refere à intensidade de estímulo a partir do qual começa a haver rejeição sensorial do produto, indicando a transição entre aceitação e rejeição sensorial. Em uma escala hedônica de nove pontos, o LRH se refere à intensidade de estímulo, no produto, que levará a uma média hedônica igual a 5.

# 2.7.2 Check-all-that-apply (CATA)

No desenvolvimento e melhoria dos produtos um dos principais objetivos é atender às necessidades dos consumidores. Para tanto, faz-se necessário um levantamento

sobre a percepção dos consumidores a respeito das características sensoriais dos produtos. Alterar a composição do produto final e/ou melhorá-lo em certas propriedades funcionais, além de melhorar outras características de qualidade, é algo que as indústrias vem buscando de forma rápida e contínua, principalmente quando visam o desenvolvimento de novos produtos (LAGE; RAMOS, 2014)

O CATA, que significa *Check-all-that-apply*, (marque tudo que se aplica), é classificado como um teste afetivo quantitativo, aplicado com uma grande quantidade de julgadores, e se baseia na formulação de uma lista de descritores ou frases, a qual é apresentada aos julgadores, para que eles escolham todas as opções que consideram apropriadas, para descrever o produto, o "aplica" ou "não se aplica" (DUTCOSKY, 2013).

Segundo Adams, Williams, Lancaster e Foley (2007), a fim de relacionar os resultados do CATA com a aceitação do consumidor, os estudos são frequentemente ampliados com questões de simpatia e/ou podem incluir a avaliação de um produto ideal (hipotético). Os dados do CATA são binários multivariados, mas o significado de uma observação individual é ambíguo. Cada consumidor toma uma decisão subjetiva sobre a aplicabilidade de cada termo para cada amostra avaliada. Os termos verificados são claramente considerados pelo consumidor como sendo percebidos e apropriados para descrever a amostra. Em contraste, termos não verificados podem indicar que o atributo não foi percebido, ou pode indicar que o atributo é percebido, mas é considerado pelo consumidor inadequado para caracterizar a amostra. Um termo não verificado pode também sugerir que o consumidor está incerto ou indeciso sobre a aplicabilidade do termo, ou não deu o termo total consideração (MEYNERS; CASTURA, 2014).

Testes estatísticos para diferenças de produto e inferência para determinar quais atributos realmente diferenciam esses produtos e quais atributos mostram diferenças que são potencialmente devidas apenas ao acaso. Se o conjunto de dados inclui avaliações de um produto ideal, dependendo do objetivo da investigação, este produto ideal é tratado como todos os outros produtos a seguir, ou é omitido da análise (MEYNERS; CASTURA, 2014).

## 2.8 Potencial antioxidante da cerveja artesanal

Mistura complexa de compostos bioativos, a cerveja contém uma quantidade considerável de compostos polifenólicos que dependem da quantidade e da qualidade das matérias-primas, dos processos de fermentação, bem como da alteração durante o

armazenamento (SANNA; PRETTI, 2015).

Os compostos fenólicos presentes nas cervejas são provenientes do malte da cevada e do lúpulo, que possuem alta atividade antioxidante e estão diretamente associados a prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes, artrite e câncer, desde que exista um consumo equilibrado da bebida. Além dessas propriedades, boa parte desses compostos estão associados à estabilidade coloidal e sabor da bebida, devido atuarem como antioxidantes, preservando as qualidades sensoriais do produto durante a sua vida útil (RIGYELSKA *et al.*, 2019).

Os principais polifenóis presentes na cerveja são, ácidos fenólicos e flavonoides de três tipos: flavonóis (catequinas e epicatequinas); as antocianinas, entre elas estão a pelargonidina, malvidina, leucocianidina e leucopelargonidina, como as chalconas; e os flavonóis (quercitina, kampferol, mircetina) (VOGEL, 2017; ZHAO; WATERHOUSE, 2019).

Segundo Li et al. (2016), a estabilidade e a vida de prateleira da cerveja estão diretamente relacionadas à atividade antioxidante produzida pela própria cerveja, sendo os ácidos fenólicos bastante atuantes no controle da oxidação e influenciando no sabor do produto final.

# 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Cerveja artesanal

As cervejas do estilo Session IPA, foram cedidas por uma cervejaria artesanal, localizada em Fortaleza, Ceará, Brasil. Destas, 50 unidades foram armazenadas a temperatura de 18°C, codificada como grupo A e 50 unidades foram armazenadas a temperatura de 1°C, codificada como grupo B. Cada garrafa contendo 550 mL. Seguindo os padrões das metodologias abaixo citadas, mensalmente foi retirada, oito garrafas de cada grupo. As temperaturas do estudo foram sugeridas pela indústria fornecedora da bebida, visto que 18°C é a temperatura de estocagem da bebida após o envase e 1 °C é a temperatura na qual a fabricante serve o *choop* no seu *Brewpub*.

#### 3.2 Análises

As análises, descritas abaixo, foram realizadas na data do envase e em intervalos de 30 dias, por um período de 150 dias, nos tempos: T0 (envase), T1 (30 dias após o envase), T2 (60 dias após o envase), T3 (90 dias após o envase), T4 (120 dias após o envase), T5 (130 dias após o envase), T6 (150 dias após o envase).

### 3.2.1 Microbiológicas

Os meios de cultura utilizados para identificação e quantificação de bactérias láticas, bactérias acéticas, leveduras *Saccharomyces* e leveduras não *Saccharomyces*, foram adquiridos através da pareceria com a empresa especialista em leveduras cervejeiras, no Brasil, Tecnologia Viva (LEVTECK). As análises foram realizadas em duplicatas, em uma amostragem de duas garrafas. Previamente, as amostras foram colocadas em frasco *schott* estéril e sob agitação manual, intercalada com a abertura da tampa do frasco, foi realizada a descarbonatação. Esse procedimento foi realizado dentro da capela de fluxo laminar, para não ocorrer contaminações.

# 3.2.1.1 Contagem de bactérias láticas e acéticas

Para análise de contagem de bactérias láticas e acéticas foi utilizada a técnica da

filtração em membrana, descrita por Rodolfo (2015) com algumas modificações.

Devido a quantidade de sedimentos e turbidez da amostra, foi realizada diluição única de 10 mL da amostra em 90 mL do diluente Proteose Peptone 0,1% ( $10^{-1}$ ). Após a filtração no Manifold, com a ajuda de uma pinça estéril, a membrana contendo o filtrado, foi adicionada sob a placa contendo meio de cultura pronto para uso *Teckbac* da *Levteck*. A incubação foi realizada em estufa a  $35 \pm 1$  °C por  $72 \pm 3$ h em jarras com atmosfera anaeróbia ou microaerófila. Foram consideradas, apenas, colônias brancas em formado esférico, sob a membrana filtante.

# 3.2.1.2 Contagem de Leveduras Saccharomyces (cervejeiras)

Para análise de contagem de levedura foi utilizada a técnica da filtração em membrana, descrita por Castro (1995), com algumas modificações. Previamente, as amostras foram descarbonatadas, em frascos estéreis rosqueados. Devido a quantidade de sedimentos e turbidez da amostra, foi realizada diluição única de 10 mL da amostra em 90 mL do diluente Proteose Peptone 0,1% (10<sup>-1</sup>). Após a filtração no Manifold, com a ajuda de uma pinça estéril, a membrana contendo o filtrado, foi adicionada sob a placa contendo meio de cultura pronto para uso Tecklev#03 da Levteck. A incubação foi realizada em estufa a 28 ± 1 °C por 72 ± 3 h. Foi considerado apenas colônias brancas em formado esférico, sob a membrana filtante.

### 3.2.1.3 Contagem de leveduras não Saccharomyces (selvagens)

Para a contagem de leveduras foi utilizada a técnica da filtração em membrana, descrita por Castro (1995), com algumas modificações.

Previamente, as amostras foram descarbonatadas, em frascos estéreis rosqueados. Devido a quantidade de sedimentos e turbidez da amostra, foi realizada diluição única de 10 mL da amostra em 90 mL do diluente Proteose Peptone 0,1% ( $10^{-1}$ ). Foi utilizado na contagem meio de cultura pronto para uso Tecklev#06 da Levteck. A incubação foi realizada em estufa a  $28 \pm 1$  °C por  $72 \pm 3$  h. Foi considerado apenas colônias brancas em formato esférico, sob a membrana filtante.

A figura 5, mostra de forma resumida a etapa das análises microbiológicas.

Figura 5 – Etapas das análises microbiológicas

(A) Meios de Cultura Levteck

(B) Processo de Descarbonatação

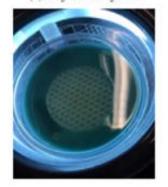




(C)Filtração Com Manifold

(D)Contagem de Microrganismos





Fonte:Elaborada pela autora.

### 3.2.2 Sensorial

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Universidade Federal do Ceará, Brasil, sob o número de parecer 3.358.075 . A cada tempo, 80 (oitenta) julgadores diferentes, com idade entre 18 a 65 anos, de ambos os sexos, consumidores de cervejas industriais e artesanais, foram recrutados, através das redes sociais para participar do painel sensorial. Um estudo prévio estatístico, baseado na disponibilidade de cervejas, determinou a quantidade de provadores ideal para a pesquisa.

Os testes foram realizados no laboratório de Análise Sensorial de Alimentos da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Para a avaliação da bebida, foram utilizadas a Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH) com variação de estímulos e o *Check-All-That-Apply* (CATA). Foi seguido o delineamento pré-estabelecido para duas amostras AB/BA, codificados com três dígitos. Ao iniciar o teste, os participantes foram convidados a ler e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido da pesquisa (Figura 6). Em seguida, 30 mL de cada amostra, entre 4 a

7°C, em taças de vidro, de forma monódica (Figura 7). Entre a degustação das amostras, foi orientado aos julgadores que ingerissem água, para a limpeza do palato. Para a manutenção da temperatura das cervejas, as mesmas ficaram armazenadas em geladeira com temperatura controlada, até serem servidas aos julgadores.

### 3.2.2.1 Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH)

A MLH proposta por Lima Filho (2015) adaptada para dados ordinais, foi utilizada a fim de identificar o Limiar de Aceitação Comprometida (LAC) e o Limiar de Rejeição (LR) dos atributos sabor, aroma, corpo e impressão global, das amostras A e B. Para identificação dos LAC e LR foi utilizado teste de aceitação por escala hedônica estruturada de nove pontos (1= desgostei muitíssimo, 5= indiferente, 9=gostei muitíssimo). Na qual, nota abaixo de 5, foi identificado como o LR da amostra. No caso do LAC, a amostra controle foi o T0 (envase) e os outros tempos, as amostras estímulos.

Na Metodologia dos limiares hedônicos, a análise dos dados consistiu em, inicialmente, verificar para cada atributo, por meio de modelos de chances proporcionais, se haveria evidência de diferença significativa entre as amostras, entre os tempos, e se existia interação entre esses dois fatores.

Para a determinação do LAC, para cada amostra e atributo, foi utilizado o modelo de chances proporcionais para efeitos fixos, visto que os julgadores são diferentes em cada tempo. Através da estimação desse modelo, verificou-se se havia diferença entre a nota hedônica do tempo 0 (controle) e a nota hedônica dos demais tempos. A partir dos resultados, foram elaborados gráficos do valor da estatística qui-quadrado obtido em cada teste (quantis da distribuição qui-quadrado -  $\chi^2$ ), colocado no eixo vertical em função dos tempos (eixo horizontal). O quantil q da distribuição qui-quadrado com 1 grau de liberdade ( $\chi^2(1)$ ), tal que p=  $P(\chi^2(1) > q)$ =0,05, é considerado o ponto de corte, ou seja, a região em que há diferença significativa ao nível de 5% de significância. Em seguida, procedeu-se ao ajuste do modelo de regressão, em que os valores da variável resposta são os quantis da distribuição qui-quadrado obtido no ajuste do modelo de chances proporcionais, e do teste de significância para o fator tempo, que é a covariável do modelo. Para a seleção do modelo, observou-se o coeficiente de determinação e a significância dos parâmetros. O LAC é o valor do tempo no qual o quantil observado passa a ser maior ou igual ao quantil  $\chi^2(1)$  correspondente a p=0.05, que corresponde ao tempo (dias de envase) a partir do qual há alteração significativa na aceitação

sensorial do produto avaliado.

O LR foi determinado a partir de modelo de regressão, no qual a variável resposta é a média das notas do atributo considerado em cada tempo e como covariável, o tempo. Por meio da equação do modelo, o LR foi calculado, sendo a concentração correspondente ao ponto no qual a nota hedônica média passa a ser menor ou igual a 5, ou seja, foi o ponto a partir do qual ocorre rejeição sensorial.

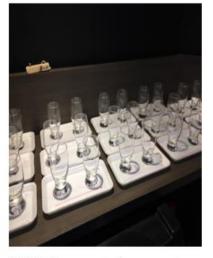
Figura 6 – TCLE e ficha aplicada para escala hedônica

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) Você está sendo convidado por Francisca Raquel Vieira de Araújo como participante da FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL pesquisa intitulada "IMPACTO SENSORIAL DA MICROBIOTA NO OFF-FLAVOUR Sexo: () Masculino () Feminino DA CERVEJA ARTESANAL" Vocé não deve participar contra a sua vontade. Leia Idade: (18-25 ()26-34 ()36-44 ()45-55 ()56-65 atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os Escolaridade: O Fundamental O Médio O Superior O Superior incompleto procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos. Objetivo do estudo: Avaliar a microbiota deteriorante presente na cerveja artesanal durante 180 dias e determinar o seu potencial para Qual a frequência de consumo de cerveja Marque a opção que avalia o artesanal? quanto você gosta de cerveja a produção e estabilidade de off-flavours, através do estudo sensorial com consumidores. ( ) Sempre (diariamente) artesanal Beneficios: Esta pesquisa trara maior conhecimento sobre o estudo proposto, sem beneficio ) Muito (pelo menos 4 vezes por semana) ) Gosto muitissimo ( ) Moderado (pelo menos 2 vezes por Gosto muito direto para o senhor. Riscos: A degustação e o preenchimento do formulário não ( ) Gosto moderadamente semana) representarão quaisquer riscos de ordem física ou psicológica, salvo se o senhor possuir ( ) Pouco (1 vez por semana) ( ) Quase nunca (menos de 1 vez por mês) qualquer tipo de ALERGIA à malte de cevada e lúpulos cítricos. Sendo isto, você NAO PODERA PARTICIPAR desta pesquisa. Sigilo: As informações fornecidas por você terão 3) Você irá receber duas amostras de cerveja artesanal avalie-as segundo a escala hedônica sua privacidade garantida pelo pesquisador responsável. Direito de recusar ou desistir do abaixo: consentimento: O senhor não tem que participar desta pesquisa se não desejar ou, pode ainda IMPRESSÃO SABOR Nº DA 9 Gostei muitissimo **AMOSTRA** GLOBAL DA escolher participar e posteriormente desistir, sem prejuizo para ambas as partes. Endereco 8 Gostei muito CERVEJA 7 Gostei moderadamente da responsável pela pesquisa: Nome: Francisca Raquel Vieira de Araújo. Instituição: 6 Gostei ligeiramente Universidade Federal do Ceara. Endereço: Av. Humberto Monte, s/n - Pici, Fortaleza - CE, 5 Nem gostei, nem desgostei 4 Desgostei ligeiramente 60440-593. Telefones para contato: 3366-8267 3 Desgostei moderadamente ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou duvida, sobre a sua participação na 2 Desgostei muito pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Etica em Pesquisa da UFC/PROPESQ. O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceara responsável pela 1 Desgostei muitissimo avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos Comentários: O abaixo assinado , declara que è de livre e espontanea vontade que está como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo. Fortaleza, \_\_\_/\_\_\_/ Nome do participante da pesquisa

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 7 - Aplicação da análise sensorial







(A)Temperatura das amostras

(B) Delineamento duas amostras

(C)Forma Monádica

Fonte: Elaborada pela autora.

# 3.2.2.2 Check-All-That-Apply (CATA)

A metodologia CATA foi utilizada para a caracterização sensorial das amostras pelosconsumidores. Nessa abordagem, foi apresentada aos julgadores uma lista de termos para que os mesmos selecionassem todos os termos considerados apropriados as amostras analisadas.

A ficha sensorial foi balanceada, de forma que o número de fichas com descritores superiores fossem semelhante aos descritores inferiores, como pode ser observado na Figura 8.

Figura 8 – Ficha de aplicação do *Check-All-That-Apply* (CATA)

4)	Marque TODAS as opções que você considera adequada para descrever a amostra:				4)	Marque TODAS a	s op	ções que você consi	dera	adequada para des	creve	er a amostra:			
N° da	Amostra:	-						N° da .	Amostra:	-					
	Adocicado		Manteiga		Picante		Vinagre		Floral		Cítrico		Caramelo		Ovo podre
	Mofo		Frutado		Terra molhada		Ácido		Chulé		Banana		Éster		Milho cozido
0	Maçã verde		Maracujá		Vômito		Refrescante		Maçã verde		Maracujá		Vômito		Refrescante
	Floral		Cítrico		Caramelo		Ovo podre		Adocicado		Manteiga		Picante		Vinagre
0	Chulé		Banana		Éster		Milho cozido		Mofo		Frutado		Terra molhada		Ácido
*.	*Além das opções acima, foi percebida outra (s) característica (s)? Qual ou Quais?  *Além das opções acima, foi percebida outra (s) característica (s)? Qual ou Quais?  *Além das opções acima, foi percebida outra (s) característica (s)? Qual ou Quais?														
					Obrigada ne	la n	articinação!						Obrigada pa	la n	reticipação!

Obrigada pela participação!

Obrigada pela participação!

Fonte: Elaborada pela autora.

### 3.2.3 Atividade Antioxidante e teor de compostos fenólicos totais

A amostragem foi realizada em uma garrafa de cerveja (550mL), de cada amostra/mês, devido a disponibilidade dos produtos estudados. As análises foram realizadas em triplicatas.

#### 3.2.3.1 DPPH

A avaliação da atividade antioxidante da cerveja foi realizada por meio do método de capacidade de captação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), pela medida da extinção de sua absorção máxima em 520 nm. Foi utilizada a técnica descrita por Hegazi e El Hady (2002), com algumas modificações.

As amostras receberam um tratamento prévio, a fim de eliminar qualquer material particulado que pudesse interferir na análise espectrofotométrica. Essas foram centrifugadas a 4.000 rpm por 20 minutos. Em seguida, foram filtradas em membrana filtrante 0,45 μm sob vácuo e diluídas com metanol, obtendo-se um volume final de 2,0 mL de solução, em frações contendo 1,0 mL, 0,5 mL, 0,25 mL, 0,125 mL, 0,0625 mL, 0,0312 mL, 0,0156 mL, 0,0078 mL, 0,0039 mL, 0,0019 mL, 0,0009 mL e 0,0005 mL de amostra. Após as diluições, foram adicionados 2,0 mL de uma solução de DPPH em metanol 60 μmol L-1. O branco foi preparado pela adição de 2,0 mL de metanol a 2,0 mL de solução de DPPH na concentração de 60 μmol L-1. Após 30 minutos de incubação, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm. A leitura da absorbância foi feita no comprimento de onda de 520 nm e o percentual de captação do radical DPPH foi calculado em termos de porcentagem de atividade antioxidante (AA%) conforme fórmula apresentada a seguir:

### 3.2.3.2 ABTS

Para atividade antioxidante da cerveja determinada pela captura do radical ABTS foi utilizada a técnica descrita por KAWA-RYGIELSKA *et al.* (2019). Os resultados foram expressos em µMTrolox equivalente de capacidade antioxidante por mL da cerveja (µMTrolox/mL).

# 3.2.3.3 Compostos fenólicos totais

Para determinação dos compostos fenólicos totais, foi utilizado o método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu (KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019). Os dados obtidos foram expressos em mg de ácido gálico por 100mL de cerveja.

#### 3.2.4 Estatística

A análise dos dados foi obtida pelo modelo de chances proporcionais, com auxílio do pacote ordinal disponível no *software* R, versão 3.5.1 (CHRISTENSEN, 2011). A associação entre os limitares hedônicos e os parâmetros microbiológicos, foi obtida através do diagrama de dispersão, para os limitares hedônicos.

O modelo de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Square Regression*, PLSR) pelo *software* R Core Team (2019), foi utilizado para verificar se os descritores observados pelos julgadores no CATA influenciaram nos limiares hedônicos. Os limiares hedônicos foram considerados como variáveis dependentes e os termos do questionário CATA como variáveis *dummy* e independentes (ARES *et al.*, 2014). Todos os procedimentos estatísticos foram feitos com auxílio do *software* R (R CORE TEAM, 2019). O pacote PLS foi utilizado para o ajuste do modelo PLSR (MEVIK *et al.*, 2019).

Para verificar a influência do tempo de armazenamento na atividade antioxidante pela inibição do radical DPPH/ ABTS e no conteúdo de compostos fenólicos totais, foi realizada análise de variância ao nível de significância de p < 0.05, ajustou-se um modelo de regressão, por meio do qual foi possível verificar a significância do tempo na concentração de antioxidantes e compostos fenólicos. Para isso, foi utilizado o *software* R Core Team (2019).

# 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Contagem de bactérias láticas e acéticas

Não houve crescimento de bactérias láticas e acéticas nas amostras A e B durante os 150 dias de armazenamento. A ausência de crescimento de bactérias láticas pode se justificar devido a natureza lupulada da cerveja Session IPA, uma vez que os compostos do lúpulo possuem propriedades antibacterianas que inibem o crescimento das bactérias Grampositivas (VAUGHAN *et al.*, 2005).

As bactérias acéticas são, geralmente, aeróbias estritas, embora algumas cepas isoladas em chope foram relatadas como sendo microaerotolerantes. Podem sobreviver aos altos níveis de etanol (> 10% v/v) e possuem a habilidade de oxidar o vinagre a acido acético, produzindo *off-flavours* de vinagre. Sendo assim, a ausência do seu crescimento nas amostras, pode se justificar pelos esforços durante a produção, para limitar a entrada de oxigênio na cerveja, principalmente na etapa de envase (VIESEKOOP *et al.*, 2012).

# 4.2 Contagem de leveduras Saccharomyces

A Figura 9, apresenta o comportamento das leveduras *Saccharomyces* nos grupos A e B durante o armazenamento.

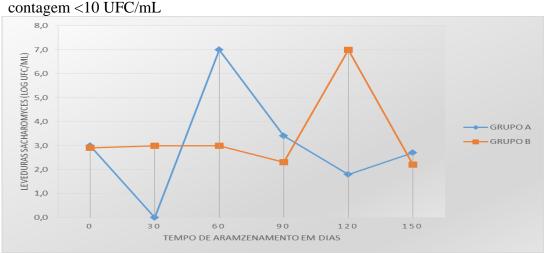


Figura 9 – Comportamento das leveduras *Saccharomyces* nas amostras do grupo A (18°C) e do grupo B (1 °C) durante o armazenamento. O valor 0, equivale à

Fonte: Elaborado pela autora.

Para o grupo A, o crescimento de leveduras Saccharomyces aumentou a partir do

T2, alcançando maior valor em T3. Já para o grupo B o crescimento ocorreu a partir de T4, alcançando o valor máximo em T5, diminuindo logo em seguida. Podemos observar um comportamento diferente do crescimento das leveduras *Saccharomyces* para A e B, o que pode ser um indicativo da influência das condições de temperatura no armazenamento.

O fato da cerveja artesanal não ter sido submetida às operações de filtração e pasteurização, pode justificar o crescimento observado das leveduras *Saccharomyces* nos grupos A e B, uma vez que a filtração simples remove leveduras floculantes e a pasteurização elimina qualquer levedura *Saccharomyces* residual, leveduras não *Saccharomyces* e bactérias contaminantes. Vale ressaltar, que as células de leveduras acumulam glicogênio, que funcionam como uma reserva bioquímica de energia e carbono para suprir as células durante o período de inanição (ROUNDHOUSE; CARBONERO, 2019; VENTURINI FILHO, 2016).

Segundo Ribeiro *et al.* (2018), há um consenso na literatura de que contagens microbianas a partir de aproximadamente 10<sup>7</sup> UFC/g ou mL de produto, os micro-organismos produzem metabólitos e/ou alteram a matriz alimentar de modo a tornar perceptível a deterioração. Nesse contexto, observou-se que a grupo A em T3 apresentou contagem próxima a 10<sup>7</sup> UFC/ mL de cerveja, enquanto o grupo B só apresentou contagem próxima a referida em T5. Esse comportamento pode ser devido a temperatura de armazenamento do grupo A, 18 °C, que é similar a temperatura de condução da fermentação com leveduras de alta fermentação (VENTURINI FILHO, 2016).

### 4.3 Contagem de leveduras não Saccharomyces

A Figura 10 apresenta o comportamento da contagem das leveduras não Saccharomyces dos grupos A e B durante o armazenamento.

Na Figura 10, no grupo A, observou-se um crescimento a partir de T2 até alcançar um valor máximo em T3, decrescendo logo em seguida. No entanto, no grupo B só não se verificou crescimento das leveduras não *Saccharomyces* em T6, com alta carga microbiana em T5. Como observado na contagem de leveduras *Saccharomyces*, houve um comportamento diferente do crescimento das leveduras não *Saccharomyces* nas amostras A e B, o que pode ser um indicativo da influência das condições de temperatura no armazenamento.

Figura 10 – Comportamento das leveduras não *Saccharomyces* nas amostras do grupo A (18  $^{\circ}$ C) e do grupo B (1  $^{\circ}$ C) durante o armazenamento. O valor 0, equivale a contagem <10 UFC/mL.

Fonte: Elaborada pela autora.

As leveduras não *Saccharomyces* são as principais deteriorantes da cerveja. Algumas dessas podem produzir *off-flavours* fenólicos, que são formados pela carboxilação de ácidos ferúlicos e cinâmicos, bem como a produção de outros *off-flavours*, como ácido acético e ésteres, que geralmente, são indesejáveis na cerveja. A presença de células pequenas ou não-floculantes de leveduras não *Saccharomyces* pode resultar em níveis altos inaceitáveis de turbidez e dificultar a clarificação (MICHEL *et al.*, 2016; PHAM *et al.*, 2011). Esses micro-organismos deteriorantes da cerveja são frequentemente presentes em equipamentos, no ar ou na matéria-prima (MANZANO *et al.*, 2011). Assim, as contagens observadas no presente estudo podem ser resultantes dos micro-organismos presentes da matéria-prima e processamento.

Devido a presença de bolores nas análises microbiológicas realizadas nas amostras dos grupos A e B no tempo T6, não foi possível realizar a análise sensorial nesse tempo. Embora a presença de bolores na cerveja não confirme a presença de micotoxinas, há um risco desses bolores serem micotoxigênicos, o que norteou a decisão mencionada (SHIBAMOTO; BJELDANES, 2014).

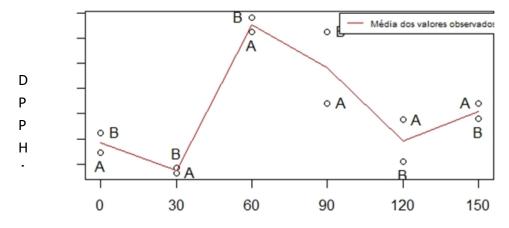
### 4.4 Atividade antioxidante

#### 4.4.1 DPPH

Os resultados da atividade antioxidante pelo radical DPPH da cerveja artesanal

armazenada a diferentes temperaturas,  $18~^{\circ}C$  (A) e  $1~^{\circ}C$  (B), por 150 dias, são apresentados, na Figura 11.

Figura 11 – Médias da atividade antioxidante pelo radical DPPH da cerveja artesanal armazenada a diferentes temperaturas, por 150 dias



Tempo de Armazenamento (dias)

Fonte: dados da pesquisa.

Com o ensaio espectrofotométrico para o radical DPPH, foram obtidos valores variando entre 0,01 a 0,02 tanto para amostra armazenada a 18 °C (A), como para amostra armazenada a 1 °C (A), ao longo dos 150 dias de estudo. Oliveira *et al* (2017), identificaram para cervejas comerciais do tipo Ale, valores variando entre 2,0 e 5,6 e valores variando entre 1,5 a 2,8, para cervejas tipo Lager. Quanto menor a quantidade necessária para reduzir o radical, maior é o poder antioxidante da cerveja. A cerveja Session IPA em estudo mostrou-se com um bom potencial antioxidante, em ambas as condições de armazenagem no T60.

Os dados obtidos na análise de variância da atividade antioxidante pelo radical DPPH da cerveja artesanal são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Análise de variância relativa ao modelo de regressão para a atividade antioxidante pelo radical DPPH da cerveia artesanal

Fonte de	Graus de	Soma de	Quadrado	Б	X7-1	
Variação	Liberdade	Quadrados	Médio	F	Valor p	
Tempo	3	6,030159e-05	2,010053e-05	1,077337	0,4119	
Resíduo	8	1,4926e-04	1,8658e-05			

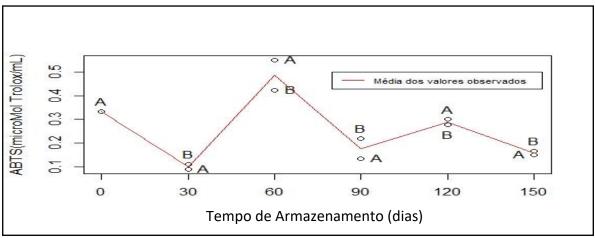
Fonte: Elaborada pela autora.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 27, não houve significância do tempo, ou seja, não se pode afirmar que houve alteração na atividade antioxidante pelo radical DPPH da cerveja ao longo do tempo de armazenamento.

#### 4.4.2 ABTS

A Figura 12, apresenta os resultados da atividade antioxidante pelo radical ABTS da cerveja artesanal armazenada a diferentes temperaturas, 18 °C (A) e 1 °C (B), por 150 dias.

Figura 12 – Médias da atividade antioxidante pelo radical ABTS cerveja artesanal armazenada a diferentes temperaturas, por 150 dias



Fonte: dados da pesquisa.

Com o ensaio espectrofotométrico para o radical ABTS, foram obtidos valores variando entre 0,1 a 0,5 µMol Trolox/mL tanto para amostra armazenada a 18 °C (A), como para amostra armazenada a 1 °C (B), ao longo dos 150 dias de estudo. Oliveira *et al* (2017), identificaram valores semelhantes para cervejas Ale e Lager comerciais. Rygielska *et al*. (2019), identificaram atividade antioxidante em cervejas desenvolvidas com sucos de frutas vermelhas. Da mesma forma com o radical DPPH, quanto menor a quantidade necessária para reduzir o radical, maior é o poder antioxidante da cerveja. A cerveja Session IPA em estudo mostrou-se com um bom potencial antioxidante, em ambas as condições de armazenagem, no T60.

Vale ressaltar, que os comportamentos da atividade antioxidante em ambas as temperaturas seguem a mesma tendência, nas duas metodologias aplicadas. A análise de variância da atividade antioxidante pelo radical ABTS da cerveja artesanal são apresentados

na Tabela 2.

Tabela 2 – Análise de Variância relativa ao modelo de regressão para a atividade antioxidante pelo radical ABTS da cerveja artesanal

Fonte de	Graus de	Soma de	Quadrado	F	Volorn
Variação	liberdade	erdade Quadrados		Г	Valor p
Tempo	3	0,02918	0,00972	0,423	0,7418
Resíduo	8	0,18399	0,02299		

Fonte: Elaborada pela autora.

Pelos resultados apresentados da Tabela 2, também não foi identificada significância para o tempo, ou seja, não há indicação que exista mudança da atividade antioxidante pelo radical ABTS ao longo do tempo.

Quanto maior a quantidade de compostos fenólicos, maior a atividade antioxidante da cerveja e a sua manutenção ao longo do tempo (LI, 2019). Esse fato, pode ser observado nesse estudo, onde os compostos fenólicos totais, se comportaram de forma semelhante a atividade antioxidante da cerveja ao longo dos tempos.

### **4.4.3** Compostos fenólicos totais

Os resultados da análise de variância para a determinação de compostos fenólicos totais da cerveja artesanal são descritos na Tabela 3.

Tabela 3 – Análise de Variância relativa ao modelo de regressão para a determinação de compostos fenólicos totais da cerveja artesanal

Fonte de	Graus de	Soma de	Quadrado	F	Valore
Variação	Liberdade	Quadrados	Médio	Г	Valor p
Tempo	3	62117,03	20705,68	30,55	9,89e-05
Resíduo	8	5422,40	677,80		

Fonte: Elaborada pela autora.

Conforme os resultados apresentados na Tabela 29, observou-se que houve diferença significativa entre os valores do conteúdo de compostos fenólicos totais da cerveja

artesanal ao longo dos 150 dias de estudo, no quais podem ser observados na tabela 4, quando aplicou-se o teste t-Student.

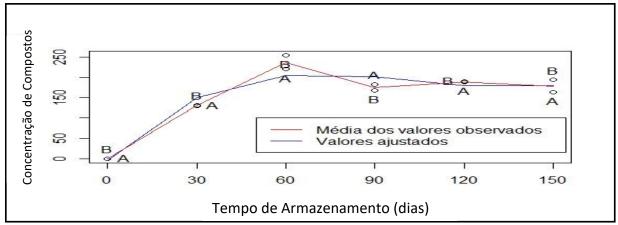
Tabela 4 – Estimativas dos parâmetros do modelo ajustado e resultados do teste t-Student para a determinação de compostos fenólicos totais da cerveja artesanal

_	t Student para a determinação de compostos renoncos totais da cerveja artesanar							
	Coeficiente	Estimativa	Erro Padrão	Estatística t	Valor p			
_					-			
	$eta_0$	-3,9875	18,0402	-0,221	0,830603			
	0	<b>5</b> 22 4 4	1.1.600	< 40.5	0.0002.41			
	$eta_1$	7,2366	1,1680	6,195	0,000261	**		
	Ω	0.0776	0.0102	4.011	0,003892	**		
	$eta_2$	-0,0776	0,0193	-4,011	0,003892			
	$\beta_3$	0,0003	0,0001	2,954	0,018322	*		
	P3	0,0003	0,0001	2,754	0,010322			

<sup>\*-</sup>significativo a 5%; \*-significativo a 1%. Fonte:Elaborada pela autora.

A Figura 13, apresenta os resultados do conteúdo de compostos fenólicos totais da cerveja artesanal armazenada a diferentes temperaturas, 18 °C (A) e 1 °C (B), por 150 dias.

Figura 13 – Concentração dos compostos fenólicos totais da cerveja artesanal, armazenada a diferentes temperaturas, por 150 dias



Fonte: dados da pesquisa.

Na Figura 36, verificou-se que as amostras A e B, obtiveram maior valor de compostos fenólicos totais, também no T60. Esse comportamento, possivelmente, se deve a alta carga microbiana de leveduras observadas no estudo nesse tempo. Sabe-se que durante a fermentação, estes micro-organismos promovem a liberação de compostos fenólicos (RYGIELSKA *et al.*,2019). Ainda podemos associar esse potencial antioxidante as matérias-primas utilizadas na fabricação do produto, uma vez que, o lúpulo e o malte concentram uma grande quantidade de compostos com propriedades antioxidantes (LI, 2019).

# 4.5 Perfil dos degustadores

### 4.5.1 Sexo dos julgadores

A partir da Figura 14, tem-se o gráfico representativo do sexo dos julgadores a cada 30 dias. Verificou-se uma faixa de público do sexo feminino, bastante representativa, para 0 dias (47,5%), como para 30 dias (56,25%). Para 30, 60, 120 dias, o público masculino foi predominante, variando de 61,25% a 70%.

O público feminino para esses tempos foi bem representativo, variando de 26,25% a 31,25%, acima da metade do número de julgadores. Esses dados mostram que, cada vez mais as mulheres estão ativamente participando do mercado cervejeiro, tanto como consumidoras, como apreciadoras e fabricantes da bebida (MORADO,2017).

PERCENTUAL DE PARTICIPAÇÃO DOS
JULGADORES COM RELAÇÃO AO SEXO

Feminino
Social (Post of Sinate)

PERCENTUAL DE PARTICIPAÇÃO DOS

JULGADORES COM RELAÇÃO AO SEXO

Feminino
Social (Post of Sinate)

O 30 60 90 120

Figura 14 – Gráfico do percentual de participação dos julgadores com relação ao sexo, por dias de análise. \*0 dias (Data do envase) \* 120 dias (Após o envase)

Fonte: dados da pesquisa.

### 4.5.2 Idade dos julgadores

Com os dados apresentados na Figura 15, verificou-se uma predominância maior na faixa etária de 18 a 25 anos, principalmente com 120 dias de envase da bebida, no qual, 86,25% pertenciam a essa faixa etária. No tempo 0 dias, observou-se que metade dos julgadores pertenciam a faixa de 26 a 35 anos, seguido por 26,25% na faixa 36-44 anos, no mesmo tempo. As idades equivalentes a 45-65 não se mostraram representativas ao longo do

tempo, podendo ser justificada, pelo público representativo dos locais de aplicação dos testes.

Figura 15 – Gráfico do percentual de participação dos julgadores por idade e por dias de análise. \*0 dias (Data do envase) \* 120 dias (Após o envase)

Fonte: dados da pesquisa.

### 4.5.3 Percentual da frequência de consumo de cerveja artesanal

Com os dados apresentados na Figura 16, foi verificado que tanto em 0 dias e 120 dias, a predominância do consumo de cerveja artesanal dos julgadores, variou entre moderado (duas vezes por semana) a quase nunca. Com 60 dias, 40% dos julgadores demonstraram consumir a bebida, pelo menos duas vezes por semana. No tempo 0, 25% dos julgadores demonstraram quase nunca consumi-la. Embora o mercado brasileiro de cervejas artesanais, ter crescido nos últimos anos, o produto ainda possui um custo de produção elevado, tornando seu valor final alto, restringindo o público consumidor. Apesar desse fato, muitos brasileiros, estão se tornando mais exigentes, prezando pela qualidade dos produtos, optando por "beber menos e beber melhor" (SEBRAE, 2015). De acordo com a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (2019), o Brasil é o terceiro maior produtor de cervejas, com um consumo de 14,1% bilhões de litros por ano.

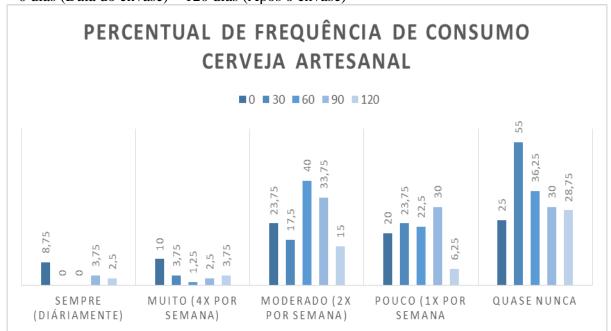


Figura 16 – Percentual de frequência de consumo de cerveja artesanal por dias de análise \* 0 dias (Data do envase) \* 120 dias (Após o envase)

Fonte: dados da pesquisa.

### 4.5.4 Grau de gostar de cervejas artesanais

Com os dados apresentados na Figura 17, observou-se uma predominância de pessoas que gostam muitíssimo de cerveja artesanal, nos tempos 0 dias e 30 dias, respectivamente, 50% e 46,25%. Nos tempos 60 dias e 90 dias verificou-se que a maioria dos julgadores relataram gostar moderadamente da bebida. Já no tempo 120 dias, constatou-se que a maioria dos julgadores (48,75%) disseram gostar muito de cerveja. Os dados nos levam a supor que o grau de gostar do produto não está relacionado com a frequência de consumo da bebida. Tendo em vista que com 30 dias após o envase, 55% dos julgadores, relataram que quase nunca consomem cerveja artesanal, porém gostam muito da bebida. Isto pode estar relacionado com o alto custo da bebida, uma vez que o custo de produção desse tipo de cerveja é mais elevado, pois se utiliza matérias primas de boa qualidade, possui um processamento mais delicado e demorado (MORADO, 2017).

Figura 17- Percentual de preferência dos julgadores por cerveja artesanal por dias de análise \* 0 dias (Data do envase) \* 120 dias (Após o envase)

Fonte: dados da pesquisa.

### 4.6 Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH)

Para cada atributo avaliado, foi adotado um modelo específico para verificar se houve diferenças significativas ao nível de 5%, entre as amostras A (18 °C) e B (1 °C), entre os tempos de envase 0 dias (T1), 30 dias (T2), 60 dias (T3), 90 dias (T4), 120 dias (T5) e a correlação entre as duas variáveis (temperatura e tempo de armazenamento), por meio do modelo estatístico de chances proporcionais.

# 4.6.1 Impressão global

Para este atributo foi adotado o modelo de efeitos aleatórios para os fatores amostras, tempo e interação entre o tempo e as amostras. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados do teste de verossimilhança para o modelo de chances proporcionais com efeito aleatório para o atributo impressão global

Fator	Estatística do teste	gl	Valor–p	
Amostra	16,2397	1	<0,001	***
Tempo	21,9092	4	<0,001	***
Amostra*Tempo	4,8691	4	0,3010	

Fonte: Elaborada pela autora.

Conforme dados da Tabela 6, os efeitos de tempo e amostra foram significativos. No entanto, a interação amostra e tempo não foi significativa. Com isso, concluiu-se que a amostra A é diferente da amostra B, ao nível de 0,05%. O que pode ser um indicativo da influência da temperatura de armazenamento no atributo impressão global. A comparação entre os efeitos de tratamento, por meio do método de médias marginais, levou aos resultados apresentados na Tabela 3. Onde os tempos com letras distintas são considerados estatisticamente diferentes.

Tabela 6 – Comparações entre os tempos para o atributo impressão global

TEMPO	GRUPO
4	A
3	Ab
1	Ab
2	В
5	В

Fonte: Elaborada pela autora.

O tempo T4, referente a 90 dias após o envase, diferiu significativamente, dos tempos T2 e T5, referentes a 60 e 120 dias após o envase, respectivamente.

A média hedônica para impressão global de cada amostra ao longo do tempo, variou entre as notas da escala de 5, que corresponde a "não gostei e nem desgostei", e 7 que corresponde a "gostei moderadamente", apresentados na Figura 18.

Observou-se que a amostra armazenada a 18 °C (A) teve uma maior aceitação que a amostra armazenada a 1 °C (B), podendo está associado a *off-flavours* produzidos pelos micro-organismos ao longo dos meses estudados, uma vez que após 90 dias do envase, houve uma contagem elevada de leveduras *Saccharomyces* e não *Sacharomyces*. Mesmo sendo considerados *off-flavours*, alguns em certa quantidade são permitidos e podem trazer características benéficas à bebida, como no caso dos frutados (MORADO, 2017).

120

envase) para impressao giobal

Tempo de armazenamento (dias)

Figura 18 – Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias após o envase) para impressão global

Fonte: dados da pesquisa

### 4.6.2 Sabor

Através do teste da razão de verossimilhança observou-se diferença significativa entre as amostras e entre os tempos, conforme os resultados apresentados na Tabela 7. O efeito de interação não foi significativo.

Tabela 7 – Resultados do teste de verossimilhança para o modelo de chances proporcionais com efeito aleatório para o atributo sabor

Fator	Estatística do teste	gl	Valor–p
Amostra	22,6204	1	<0,001 ***
Tempo	26,9613	4	<0,001 ***
Amostra*Tempo	5,5159	4	0,2383

Fonte: Elaborada pela autora.

Conforme os resultados apresentados na Tabela 8, há diferença significativa, quanto ao sabor, entre o tempo T4 (90 dias) e os tempos T1 (envase), T2 (30 dias) e T5 (120 dias).

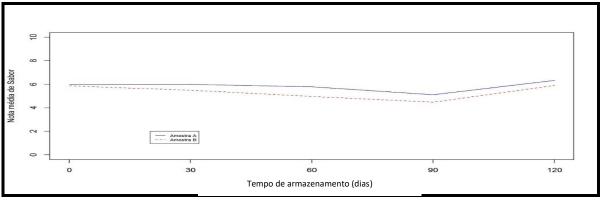
Tabela 8 – Comparações entre os tempos para o atributo sabor

Tuestu e computações entre	os tempos pura o atricato sacor
TEMPO	GRUPO
4	A
3	ab
2	В
1	В
5	В

Fonte: Elaborada pela autora.

As médias hedônicas para o atributo sabor, das amostras A (18 °C) e B (1 °C), ao longo do tempo, variaram entre as notas da escala de 5 (não gostei e nem desgostei) e 7 (gostei moderadamente) apresentadas na Figura 19.

Figura 19 – Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias após o envase) para sabor



Fonte: dados da pesquisa.

Observou-se que ambas as amostras registraram um declínio na média hedônica, com 90 dias após o envase (T4), tendendo a média 5 da escala. A amostra A (18 °C) teve maior aceitação que a amostra B (1 °C), ao longo do armazenamento.

### 4.6.3 Aroma

Para este atributo foi adotado o modelo de efeitos aleatórios para os fatores amostras, tempo e interação entre o tempo e as amostras. Os resultados apresentados na Tabela 9 indicaram que os efeitos de amostra, tempo e interação entre amostra e tempo foram significativos. Isso indica que houve influência das condições de temperatura e do tempo de armazenamento das amostras no julgamento do atributo aroma.

Tabela 9 – Resultados do teste de verossimilhança para o modelo de chances proporcionais com efeito aleatório para o atributo aroma

Fator	Estatística do teste	gl	Valor–p
Amostra	25,319	1	<0,001 ***
Tempo	11,200	4	0,0244 *
Amostra*Tempo	12,534	4	0,0138 *

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 10, comparando-se os tempos em cada amostra, verificou-se que na amostra A (18 °C), não há diferença entre os tempos, o mesmo ocorrendo com a amostra B (1°C). Mas, comparando-se as amostras em cada tempo, tem-se que as amostras não podem ser consideradas diferentes nos tempos T1 (envase), T3 (60 dias) e T5 (120 dias). Já nos tempos T2 (30 dias) e T4 (90 dias), as amostras A e B são estatisticamente distintas. Na Tabela 7, os tempos com letras distintas são considerados estatisticamente diferentes.

Tabela 10 – Comparações entre os tempos para o atributo aroma

AMOSTRA	ТЕМРО	GRUPO
В	4	a
В	3	ab
A	1	abcd
В	2	abc
В	1	abcd
A	4	bcd
В	5	abcd
A	3	bcd
A	2	d
A	5	cd

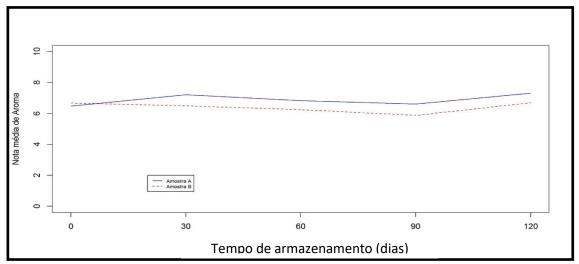
Fonte: Elaborada pela autora.

De acordo com as médias hedônica das amostras ao longo do tempo para o atributo aroma, vistas na Figura 20, observou-se que as duas amostras obtiveram médias hedônicas entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente), e mantiveram-se na região de aceitação da escala hedônica, ao longo do tempo. Isso pode ser devido ao fato da Session IPA ser uma cerveja que utiliza lúpulos especiais, responsáveis por conferir aromas especiais ao produto, como os frutados e florais.

Observando a Figura 20, verificou-se também que o tempo com as menores médias hedônicas para as amostras A (18 °C) e B (1 °C), foi T4 (90 dias). Da mesma forma que para os atributos sabor e impressão global, para o atributo aroma, a amostra A foi mais aceita que a amostra B. A baixa temperatura faz com que ocorra o acúmulo de sedimentos, responsáveis por conferir sabores e aromas a bebida, que dependendo da quantidade podem ser considerados agradáveis ou desagradáveis (MORADO, 2017). Levando em consideração a quantidade de sedimentos produzida ao longo dos meses na Session IPA, podemos considerar

um fator negativo para a amostra B, mesmo suas notas permanecendo na região de aceitação.

Figura 20 – Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias após o envase) para o aroma



Fonte: dados da pesquisa.

### 4.6.4 Corpo

Na análise do atributo corpo da cerveja, constatou-se diferença significativa entre as amostras e os tempos, ou seja, as amostras A (18 °C) e B (1 °C) são diferentes, indicando que houve influência das condições de temperatura de armazenamento no julgamento do atributo. Mas, não existe efeito de interação, de acordo com os dados apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultado do teste de verossimilhança para o modelo de chances proporcionais com efeito aleatório para o atributo corpo

Fator	Estatística do teste	gl	Valor–p
Amostra	4,323	1	0,03760 *
Tempo	30,6261	4	<0,001 ***
Amostra*Tempo	8,4612	4	0,07607

Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 12 são expressos os dados referentes as comparações entre os tempos das amostras para o atributo corpo. Vale destacar, que os tempos com letras distintas, são considerados estatisticamente diferentes.

A comparação dos efeitos por meio da estimação de médias marginais mostra que

não há indicações de diferença significativa entre os tempos T1 (envase), T3 (60 dias) e T4 (90 dias), o mesmo ocorrendo com os tempos T2 (30 dias) e T5 (120 dias). Esses dois grupos de tempos são diferentes entre si.

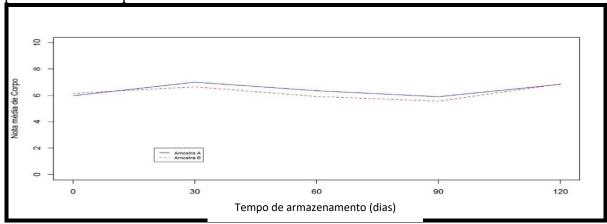
Tabela 12 – Comparações entre os tempos para o atributo corpo

TEMPO	GRUPO	
4	a	
1	a	
3	a	
2	b	
5	b	

Fonte: Elaborada pela autora.

Com base na Figura 21, observou-se que as amostras obtiveram médias hedônicas entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente), e ambas se mantiveram na região de aceitação da escala hedônica, onde a menor média hedônica foi obtida no T4 (90 dias). A amostra A obteve maiores médias hedônicas nos tempos T2 (30 dias), T3 (60 dias) e T4 (90 dias).

Figura 21 – Perfil das médias hedônicas das amostras ao longo do tempo (120 dias envase) para o atributo corpo



### Fonte: dados da pesquisa.

### 4.6.5 Limiares hedônicos

# 4.6.5.1 Limiar de Aceitação Comprometida (LAC)

De acordo com a Tabela 13, observou-se que para o atributo sabor, considerando a

amostra A (18 °C) houve diferença significativa entre a amostra controle T1 (envase) e estímulo T2 (30 dias). Para os atributos aroma e corpo, essa diferença foi significativa, entre o controle T1 e os estímulos T2 (30 dias) e T4 (120 dias). Os valores estão sinalizados com (\*), na Tabela 13.

Tabela 13 - Comparação entre o tempo T1 (controle) e os demais tempos (estímulos)

para a amostra A

para a amostra A			
		Estatística da razão de	
Atributo	Tempo	verossimilhança	p-valor
		(quantil observado)	
	2	3,5916	0,0581
Immuna a Clabal	3	0,3344	0,5631
Impressão Global	4	1,6139	0,2039
	5	3,2305	0,0723
	2	0,0101	0,9197
Calar.	3	0,2039	0,6516
Sabor	4	7,2427	0,0071*
	5	0,6650	0,4148
	2	9,1990	0,0024*
A	3	2,3934	0,1219
Aroma	4	0,7243	0,3947
	5	9,9813	0,0016*
Corpo	2	14,6790	0,0001*
	3	1,2447	0,2646
	4	0,0157	0,9003
	5	9,2320	0,0024*

Fonte: Elaborada pela autora.

Para amostra B (1°C), observou-se que o controle T1 (envase) diferiu significativamente do estímulo T4 (90 dias) para impressão global, sabor e aroma. E para o atributo corpo, houve diferença significativa entre o controle T1 (envase) e T2 (30 dias). Os valores estão sinalizados com (\*), na Tabela 14.

O valor do *quantil* (q) tal que  $P(\chi^2(1) > q) = 0.05$  é q = 3.8414, ou seja, se as comparações para a estatística da razão de verossimilhança for superior a q, indicam haver diferenças entre os tempos. Essas diferenças estão destacadas nas Tabelas 13 e 14 com o símbolo \*. A partir desses resultados, ajustaram-se modelos de regressão linear entre os *quantis* observados (variável resposta) e os tempos de envase. A partir do modelo encontrado foram determinados os LAC's para cada atributo e amostra. Tais limites foram obtidos por meio da equação de regressão encontrada. O modelo escolhido foi determinado a partir da significância dos parâmetros e dos coeficientes de determinação ajustados ( $R^2$  ajustado).

A partir da diferença significativa entre o controle e os estímulos, determinou-se os valores dos Limiares de Aceitação Comprometida (LAC), expresso na Tabela 15, para as amostras A e B.

Tabela 14 – Comparação entre o tempo T1 (controle) e os demais tempos (estímulos) para a amostra B

Atributo	Tempo	Estatística da razão de verossimilhança (quantil observado)	p-valor
Impressão Global	2	0,19074	0,6623
	3	1,0987	0,2946
	4	9,3522	0,0022*
	5	1,6418	0,2001
	2	0,8291	0,3625
Cala	3	7,4568	0,0063*
Sabor	4	14,8730	0,0001*
	5	0,0525	0,8187
Aroma	2	0,1888	0,6639
	3	0,8425	0,3587
	4	6,3968	0,0114*
	5	0,1149	0,7346
Corpo	2	4,3175	0,0377*
	3	0,5786	0,4469
	4	1,9569	0,1618
	5	7,9388	0,0048

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 15 – Limiares de Aceitação Comprometida (LAC) para cada atributo e amostra

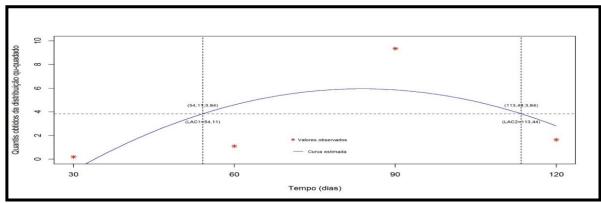
Atributo	Amostra	Modelo Ajustado	LAC
Impressão Global E	ъ	Quantil= -10,8538+ 0,4011*tempo-0,0024*tempo <sup>2</sup>	$LAC_1 = 54,1094$
	ь		LAC <sub>2=</sub> 113,4440
Sabor	A	Quantil= -0,2204+0,0301*tempo	135,3467
	В	Quantil= -22,2789+0,9106*tempo-0,0060*tempo <sup>2</sup>	$LAC_1 = 38,2622$
	Б		LAC <sub>2</sub> =114,5836
Aroma	A	Quantil= 25,4834-0,6670*tempo+0,0045*tempo <sup>2</sup>	$LAC_1 = 47,6055$
			$LAC_2 = 101,8880$
	В	Quantil= 0,5526+ 0,0178*tempo	185,0204
Corpo	A	Quantil= 38,9988-1,0023*tempo+0,0063*tempo <sup>2</sup>	$LAC_1 = 52,1398$
			$LAC_2=107,1687$
	В	Quantil= 12,7900-0,3642*tempo+ 0,0027*tempo <sup>2</sup>	$LAC_1 = 32,2977$
			$LAC_2=102,5897$

Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se na Tabela 15, que quando os modelos ajustados possuem o termo quadrático, a equação gerada para obtenção do LAC tem duas raízes, por isso, apresentaram-se dois valores para o limiar. Nesse caso, pode-se interpretar esse resultado como o fato de que, os tempos T2, T3, T4 e T5 (30, 60, 90 e 120 dias), contidos no intervalo entre os dois valores são significativamente diferentes do tempo controle (0), quando a concavidade estiver voltada para baixo, ou não se detecta diferença, quando a concavidade estiver voltada para cima.

As Figuras 22, 23, 24, 25, 26 e 27 ilustram os valores de LAC para cada atributo e amostra.

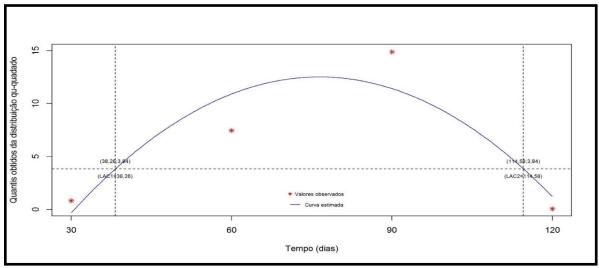
Figura 22 – *Quantis* observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo impressão global da amostra B (1  $^{\circ}$ C)



Fonte: dados da pesquisa.

Na Figura 18 verificou-se que o LAC para o atributo impressão global da amostra B, foi identificado a partir do tempo T3 (60 dias).

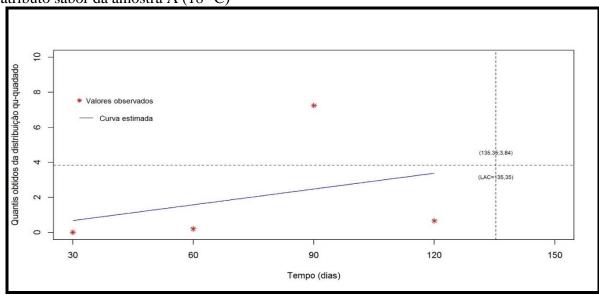
Figura 23 – *Quantis* observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo sabor da amostra B (1 °C)



Fonte: dados da pesquisa.

Na Figura 23 verificou-se que o LAC para o atributo sabor da amostra B, foi identificado a partir do tempo T3 (60 dias).

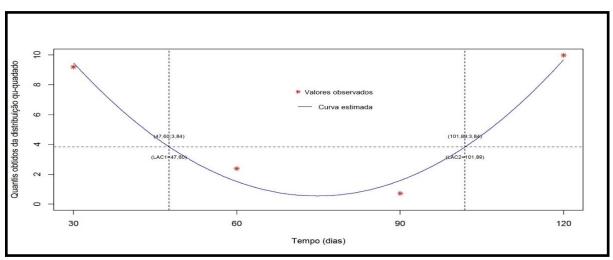
Figura 24 – *Quantis* observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo sabor da amostra A (18 °C)



Fonte: dados da pesquisa.

A Figura 24 indica que o LAC para o atributo sabor da amostra A, é superior ao tempo máximo estudado (120 dias), pois não houve diferença significativa entre os tempos estímulo e os tempo controle. Sendo assim, não foi possível detectar o LAC para o sabor da amostra A durante os 120 dias de armazenamento.

Figura 25 - *Quantis* observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo aroma da amostra A (18 °C)

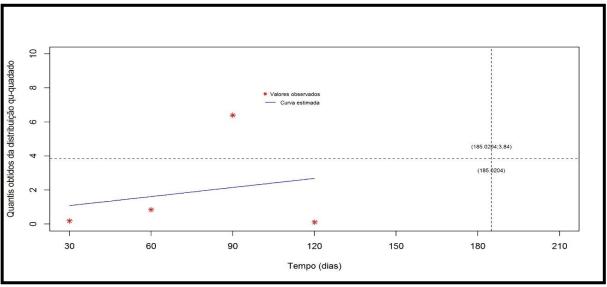


Fonte: dados da pesquisa.

A Figura 25 que os tempos 2, 3, 4, 5 (30, 60, 90 e 120 dias), contidos no intervalo entre os dois valores não são significativamente diferentes do tempo controle (T1). Sendo assim, não foi possível detectar o LAC para o aroma da amostra A durante os 120 dias de

armazenamento.

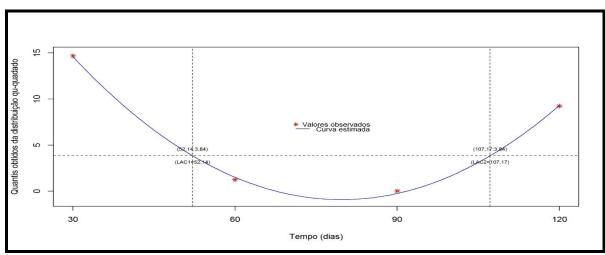
Figura 26 – *Quantis* observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo aroma da amostra B (1  $^{\circ}$ C)



Fonte: dados da pesquisa.

Conforme observado na Figura 26 para o atributo sabor da amostra A, o LAC para o atributo aroma da amostra B, também não foi identificado durante os 120 dias de armazenamento.

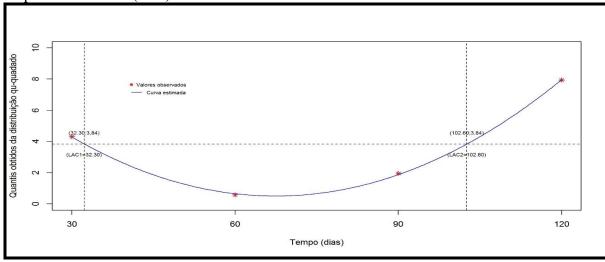
Figura 27 – *Quantis* observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo corpo da amostra A  $(18 \, ^{\circ}\text{C})$ 



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 28 – Quantis observados, curva do modelo ajustado e valores de LAC, para o atributo

corpo da amostra B (1 °C)



Fonte: dados da pesquisa.

De acordo com as Figuras 27 e 28, para o atributo corpo das amostras A e B, não foi possível detectar o LAC durante os 120 dias de armazenamento.

### 4.6.5.2 Limiar de Rejeição (LR)

O modelo de regressão foi ajustado, a fim de relacionar a média de cada atributo (variável resposta) e o tempos, que são as covariáveis. O LR é o valor do tempo, obtido por meio do respectivo modelo ajustado, quando a média encontrada foi abaixo de 5,0, o que implica dizer que o produto foi rejeitado. Os resultados estão na Tabela 16.

Tabela 16 – Limiares de Reieição (LR) para cada atributo e amostra

Tubela 10 Elimares de Rejeição (ER) para edad adribato e amostra			
Atributo	Amostra	Modelo Ajustado	LR
Impressão Global	В	Média=8,0531-0,0761*tempo+0,0005*tempo <sup>2</sup>	Não determinado
Sabor	A	Média=7,4844-0,0577*tempo+0,0004*tempo <sup>2</sup>	Não determinado
	В	Média=7,4844-0,0794*tempo+ 0,0005*tempo <sup>2</sup>	LR <sub>1</sub> =45,51472 LR <sub>2</sub> =100,1286
Aroma A B	A	Média=8,3190-0,0445*tempo+0,0003*tempo <sup>2</sup>	Não determinado
	В	Média=7,6000-0,0439*tempo+0,0003*tempo <sup>2</sup>	Não determinado
Corpo	A	Média=8,7406-0,0692*tempo+0,0004*tempo <sup>2</sup>	Não determinado
	В	Média=8,7219-0,0839*tempo+0,0006*tempo <sup>2</sup>	Não determinado

Fonte: Elaborada pela autora.

De acordo com a Tabela 16, o LR foi detectado apenas para o atributo sabor na amostra B (1 °C), que é representado na Figura 29.

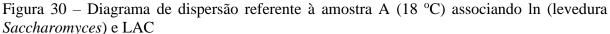
Figura 29 – Curva do modelo ajustado e valores de LR, para o atributo sabor da amostra B (1 °C)

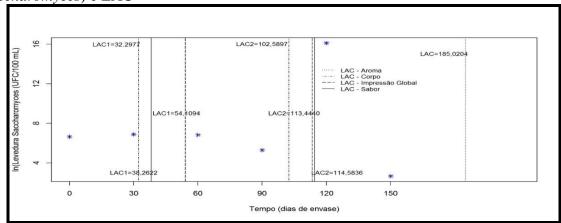
Fonte: dados da pesquisa.

Na Figura 29 verificou-se que LR para o atributo sabor da amostra B (1°C), foi identificado a partir do tempo T3 (60 dias).

### 4.6.6 Limiares hedônicos x Contagem de leveduras

A associação entre os valores encontrados na contagem de leveduras *Saccharomyces* (UFC/100 mL) e leveduras não *Saccharomyces*, com os resultados obtidos na determinação dos limitares hedônicos, foi feita por meio de análise gráfica, onde observou-se que os limitares hedônicos ocorreram em valores elevados de contagem de leveduras *Saccharomyces* e não *Saccharomyces*.





Fonte: dados da pesquisa.

# LAC1=52,1398 LAC2=107,1687

\*\*

LAC1=47,6055 LAC2=107,1687

\*\*

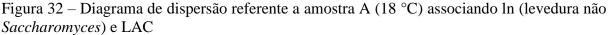
LAC1=47,6055 LAC2=101,8880 \*

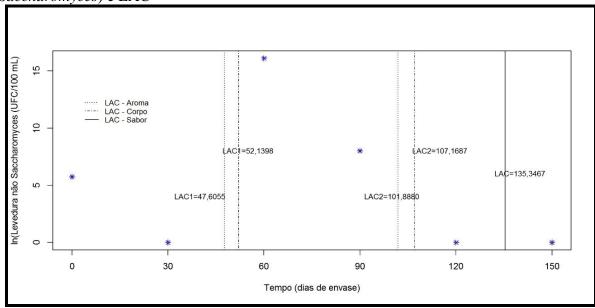
Tempo (dias de envase)

Figura 31 – Diagrama de dispersão referente à amostra B (1 °C) associando ln (levedura não *Saccharomyces*) e LAC

Fonte: dados da pesquisa.

Nas Figuras 31 e 32, verificou-se que os LAC de aroma e corpo da amostra A (18 °C) encontram-se próximos do tempo no qual a contagem de leveduras *Saccharomyces* foi bastante elevada, o mesmo ocorrendo para os atributos sabor, impressão global e corpo da amostra B (1 °C). Os demais LAC ocorreram em valores baixos da contagem das leveduras. Sendo assim, não se pode afirmar que a contagem elevada de leveduras *Saccharomyces* seja a causa da aceitação comprometida das amostras A (18 °C) e B (1 °C), no entanto, é um indicativo para investigações posteriores.





Fonte: dados da pesquisa.

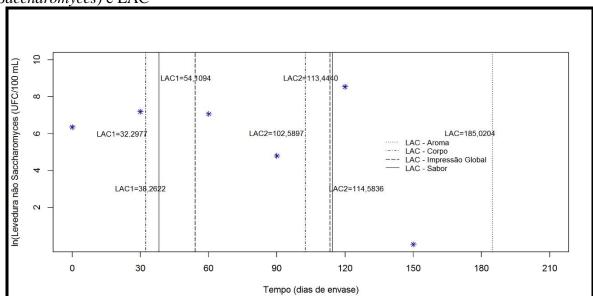


Figura 33 – Diagrama de dispersão referente a amostra B (1 °C) associando ln (levedura não *Saccharomyces*) e LAC

Considerando as Figuras 33 e 34, os atributos corpo e sabor da amostra A (18 °C) tem LAC próximos ao maior valor da contagem de leveduras não *Saccharomyces*, o que sugere uma investigação para verificar a influência dessas leveduras nos respectivos limiares. Na amostra B, os valores da contagem de leveduras não *Saccharomyces* tem variação bem menor que nos demais casos. Mesmo assim, observou-se que os LAC estão próximos dos maiores valores da contagem de leveduras não *Saccharomyces*, sobretudo para os atributos impressão global e sabor, o que pode indicar uma associação entre a contagem de leveduras não *Saccharomyces* e o LAC do produto. Vale ressaltar, que o LAC de aroma da amostra B estava fora do intervalo de tempo do experimento.

#### 4.7 Check-All-That-Apply (CATA)

#### 4.7.1 Frequência dos descritores

A tabela de contingência, apresenta a frequência dos cinco descritores mais citados, ao longo dos 120 dias de estudo, para amostras A (18 °C) e B (1 °C). O asterisco (\*) indica os cinco descritores mais citados pelos avaliadores para descrever cada produto no respectivo mês. Os dados estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Frequência dos descritores mais citados pelos julgadores para descrever as amostras A (18 °C) e B (1 °C) nos 120 dias

		Ter	npo d	de arı	naze	name	nto (	dias)		
		I	I	Ι	I	II	Ι	V	1	V
DESCRITORES		0	30	0	6	0	9	0	12	20
CÎTRICO	45*	41*	39*	35*	57*	51*	36*	26*	38*	35*
FRUTADO	27*	28*	32*	23*	25*	24*	17*	22*	28*	25*
ÁCIDO	26*	26*	32*	34*	44*	35*	39*	28*	35*	30*
MARUCUJÁ	22*	17	26*	23*	7	9	15	20*	17*	21*
FLORAL	17*	25*	13	14	11	12	9	10	9	14
REFRESCANTE	14	21*	20*	20*	19*	17*	16*	7	23*	22*
VINAGRE	12	11	11	10	17*	16*	16*	20*	11	15
ADOCICADO	10	9	10	13	13	11	12	18	17	15
CHULE	6	7	5	9	4	14	3	9	5	6
PICANTE	6	6	9	10	10	12	4	5	8	6
MOFO	5	3	6	9	7	10	7	16	3	5
MAÇĀ VERDE	5	10	14	9	8	6	14	10	17	8
VÔMITO	5	2	3	9	7	10	5	7	4	6
MILHO COZIDO	5	1	4	7	5	8	5	7	2	3
TERRA MOLHADA	4	4	5	3	4	4	0	5	2	6
MANTEIGA	3	11	6	2	6	6	5	7	12	15
ESTER	3	4	7	7	5	6	3	3	2	2
CARAMELO	2	1	4	5	1	2	3	3	5	5
BANANA	1	2	5	3	4	1	3	1	1	6
OVO PODRE	0	0	0	2	2	2	3	11	3	1

Na Tabela 17, observou-se que os descritores mais citados pelos julgadores foram: cítrico, frutado, ácido, maracujá, floral, refrescante e vinagre. Dentre esses, os descritores cítrico, frutado e ácido, foram citados em todos os tempos, para as duas amostras.

# 4.7.2 Teste X<sup>2</sup> para tabelas de contingência

Tabela 18 – Resultados do teste  $\chi^2$  com o tempo de armazenamento

Dias	Estatística $\chi^2$	Valor p
I	15,181	0,6557
II	14,19	0,7766
III	11,979	0,9070
IV	28,03	0,0899
V	14,538	0,7631

Por meio dos resultados apresentados na Tabela 18 e considerando um nível de significância de 5%, observou-se que não existem evidências suficientes que corroborem com a hipótese de que as descrições e os produtos possuem alguma associação. Essa interpretação vale para todos os tempos de armazenamento, uma vez que o valor p foi menor que 0,05. Esse resultado concorda com os dados presentes na Tabela 18, visto que comparando dentro de cada tempo, as amostras A (18 °C) e B (1 °C) possuem certa similaridade nas frequências das descrições.

## 4.7.3 Análise de correspondência múltipla

Essa foi utilizada para verificar se houve diferença significativa nas descrições das amostras ao longo do tempo, com base na percepção dos julgadores. A Figura 34 ilustra o percentual de variabilidade explicada por cada dimensão. Observou-se que as dimensões 1 e 2 acumulam um total de 16% da variabilidade total, este é um valor muito baixo sendo necessário um número maior de dimensões para melhor representar os dados.

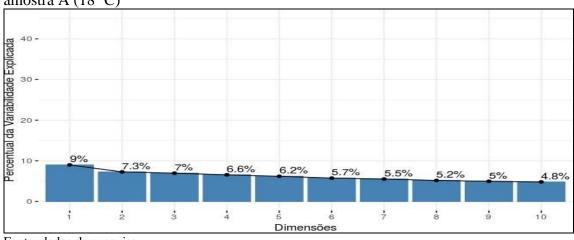


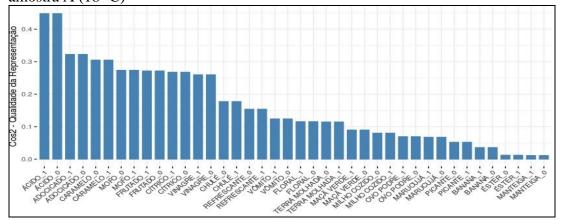
Figura 34 – Gráfico do percentual de variabilidade explicada por cada dimensão, para amostra A (18 °C)

Fonte: dados da pesquisa.

Os gráficos de representação, Figuras 34, 35 e 36, indicam quais descritores estão sendo mais bem representados por cada par de dimensões, para amostra A (18 °C). Em (a) uma quantidade considerável está sendo bem representada pelas dimensões 1 e 2, principalmente, os descritores ácido, adocicado e caramelo. Por outro lado, o mesmo não pode ser dito para manteiga, éster, banana, picante, ovo podre e outros descritores de baixa representação. Portanto, outras dimensões devem ser consideradas. Em (b) as dimensões 3 e 4

representam melhor os descritores anteriormente, fracamente descritos como éster, banana, manteiga, floral, mofo. Porém os descritores maracujá, cítrico, ovo podre e terra molhada, também não foram bem representados neste par de dimensões. Por fim em (c) as dimensões 5 e 6 representaram relativamente bem, os descritores terra molhada, maracujá, chulé, fracamente representados pelos outros dois pares apresentados. Portanto, para a análise serão consideradas as 6 primeiras dimensões que acumulam aproximadamente 42% da variabilidade dos dados.

Figura 35 – Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 1 e 2 (a), para amostra A (18 °C)



Fonte: dados da pesquisa.

Figura 36 – Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 3 e 4 (b), para amostra A (18 °C)

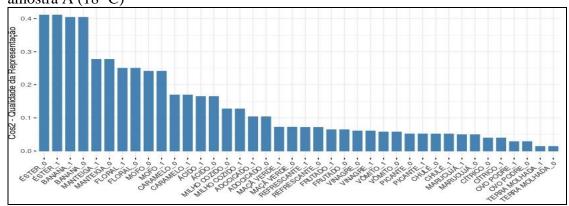
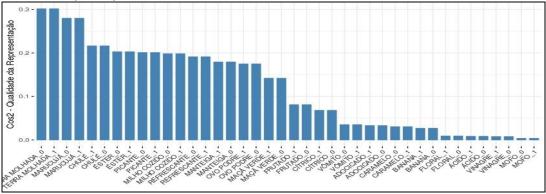
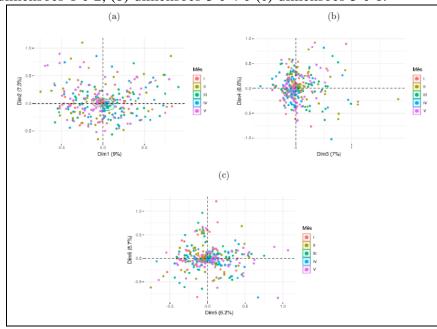


Figura 37 – Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 5 e 6 (c), para amostra A (18 °C)



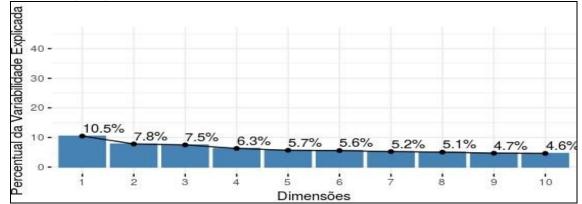
Cada par de dimensões foi, portanto, utilizado para construção de mapas de fatores com relação aos indivíduos, estes que foram classificados de acordo com o tempo de armazenamento em que as amostras foram avaliadas. Aqueles que possuem perfis similares, ou seja, descreveram a amostra A de forma parecida, estarão próximos nos mapas de fatores. Além disso, nos gráficos existem pontos centrais com elipses de confiança para cada um dos grupos, esses que estão bem próximos entre si em todos os mapas, como pode ser verificado na Figura 30. Isso significa que em geral os julgadores de diferentes meses descreveram a amostra A de forma parecida, identificando que a amostra A não sofreu alterações significativas ao longo do tempo quando considerada as perceções sensoriais dos avaliadores.

Figura 38 – Mapas de dimensões com relação aos indivíduos em MCA, para amostra A (18 °C). Em (a) dimensões 1 e 2, (b) dimensões 3 e 4 e (c) dimensões 5 e 6.



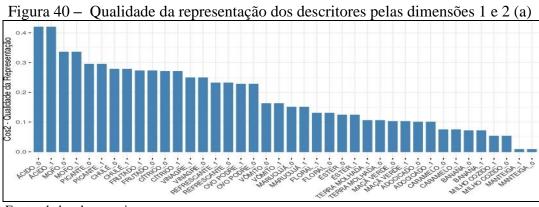
O mesmo procedimento foi realizado para amostra B (1 °C). A Figura 38 apresenta o percentual de variabilidade explicada por cada dimensão. As dimensões 1 e 2 acumulam um total de 18% da variabilidade total dos dados, assim como, para amostra A (18 °C), esse é um valor muito baixo, sendo necessário mais dimensões para possibilitar interpretações mais completas dos dados.

Figura 39 – Gráfico do percentual de variabilidade explicada por cada dimensão com relação à amostra B (1 °C)



Fonte: dados da pesquisa.

Os gráficos na Figura 39, 40 e 41, indicam quais descritores estão sendo mais bem representados por cada par de dimensões. Em (a) uma quantidade considerável está sendo bem representado pelas dimensões 1 e 2, principalmente, os descritores ácido, mofo, picante e chulé. Por outro lado, o mesmo não pode ser dito para manteiga, milho cozido, banana e caramelo. Considerando as dimensões 3 e 4 representadas em (b) indicando os descritores banana e caramelo. Por fim, em (c) as dimensões 5 e 6 representaram relativamente bem, os descritores manteiga, vômito e caramelo. Portanto, para a análise serão consideradas as 6 primeiras dimensões que acumulam aproximadamente 43% da variabilidade dos dados.



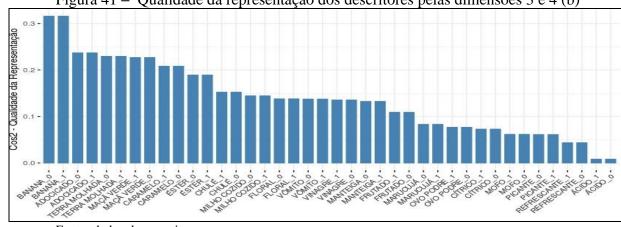


Figura 41 – Qualidade da representação dos descritores pelas dimensões 3 e 4 (b)

Fonte: dados da pesquisa.



PHONITH

Fonte: dados da pesquisa.

Os pontos centrais com elipses de confiança estão bem próximos entre si em todos os mapas, isso significa que em geral os julgadores de diferentes tempos de armazenamento descreveram a amostra B (1 °C) de forma similar. A amostra B não sofreu alterações significativas ao longo do tempo quando consideradas as percepções sensoriais dos julgadores. O que pode ser observado na Figura 39, com a representação dos mapas de dimensões para amostra B.

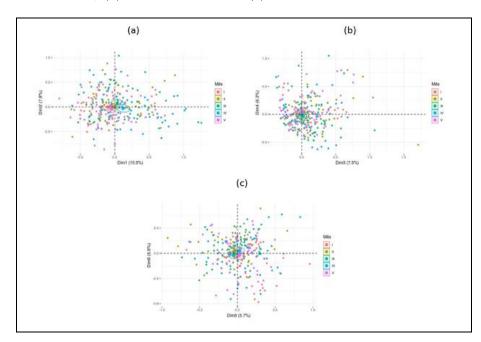


Figura 43 – Mapas de dimensões com relação aos indivíduos em MCA, para amostra B (1 °C). Em (a) dimensões 1 e 2, (b) dimensões 3 e 4 e (c) dimensões 5 e 6

### 4.7.4 Regressão por mínimos quadrados parciais

Essa etapa da análise tem como objetivo estudar a relação dos Limiares Hedônicos com os descritores obtidos no questionário CATA. Foram feitas perguntas aos avaliadores com relação a alguns termos de interesse como *Impressão Global*, *Sabor*, *Aroma* e *Corpo da Cerveja* a fim classificá-los utilizando uma escala hedônica de 9 pontos (1) *Desgostei Muitíssimo* e (9) *Gostei Muitíssimo*.

O Modelo de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Square Regression*, PLSR) foi utilizado para avaliar o efeito dos descritores observados pelos avaliadores na etapa do questionário CATA nos Limiares Hedônicos. Os Limiares Hedônicos foram considerados como variáveis dependentes e os termos do questionário CATA como variáveis *dummy* e independentes, semelhante ao que foi feito em [1]. Todos os procedimentos estatísticos foram feitos com auxílio do *software* R [3]. O pacote [2] foi utilizado para o ajuste do modelo PLSR. Foram realizados ajustes para ambos os produtos em todos os meses separadamente, em que os resultados são apresentados nas tabelas a seguir.

#### Primeiro Mês

Tabela 19 – Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Primeiro Mês

		Impress Cerveja	são Global				Sabor			A	Aroma				Corpo	da da
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p
	S		t		S				S				S			
Adocicado	0,71	0,87	0,81	0,42	0,43	0,75		0,57	0,61	0,55		0,27	-0,27	0,81	-0,33	0,74
Chulé	0,42	0,83	0,51	0,61	-0,56			0,48	-1,41	1,12	-1,26	0,21			-0,14	0,89
Mofo	-1,20	1,36	-0,88	0,38	-1,52	1,32		0,25	0,78	2,34		0,74	-1,76	1,37	-1,29	0,20
Maça Verde	1,36	0,52	2,64	0,01**	1,20	0,69		0,08	0,36			0,53	-0,62	0,89	-0,70	0,49
Floral	-0,48	0,65	-0,74	0,46	-0,11	0,71	-0,15	0,88	-0,92	0,76	-1,20	0,23	-0,89	0,74	-1,20	0,23
Manteiga	1,43	2,33	0,61	0,54	0,76	2,64	0,29	0,77	0,68	3,05	0,22	0,82	2,32	1,60	1,45	0,15
Frutado	0,47	0,46	1,01	0,31	0,96	0,48	1,99	0,05	0,36	0,47	0,75	0,45	0,18	0,49	0,37	0,71
Maracujá	-0,03	0,60	-0,05	0,96	-0,72	0,56	-1,29	0,20	-0,54	0,64	-0,84	0,41	-0,99	0,68	-1,45	0,15
Cítrico	0,62	0,52	1,20	0,23	0,39	0,51	0,77	0,45	0,98	0,59	1,67	0,10	0,46	0,54	0,85	0,40
Banana	-3,43	5,42	-0,63	0,53	-5,12	5,64	-0,91	0,37	-1,51	3,66	-0,41	0,68	-5,75	6,45	-0,89	0,38
Picante	0,65	1,18	0,55	0,58	-0,30	1,21	-0,25	0,80	1,24	1,01	1,23	0,22	2,14	1,00	2,14	0,04*
Terra Molhada	-0,44	1,02	-0,43	0,67	-0,85	0,71	-1,19	0,24	-0,83	1,46	-0,57	0,57	-0,02	1,33	-0,02	0,99
Vômito	-0,80	0,76	-1,05	0,30	-2,41	0,73	-3,30	<0,01*	-1,17	1,57	-0,74	0,46	-2,24	0,88	-2,55	0,01**
Caramelo	-1,50	4,09	-0,37	0,72	-1,75	3,84	-0,46	0,65	-0,28	1,54	-0,18	0,85	-0,45	3,01	-0,15	38,0
Vinagre	-0,15	0,90	-0,17	0,86	0,22	0,66	0,33	0,74	0,49	0,78	0,63	0,53	0,42	0,82	0,51	0,61
Refrescante	0,77	0,74	1,03	0,30	0,82	0,60	1,37	0,17	1,28	0,71	1,81	0,07	1,08	0,77	1,40	0,16
Ovo Podre	0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00		
Milho Cozido	0,37	1,88	0,20	0,84	1,10	1,44		0,45	-0,11	1,07	-0,10	0,92	0.67	1,46	0,46	0,65
Ester	0.44	3,89	0,11	0,91	1.73	2,27	0,76	0,45	1,19	2,94		0,69	2,35	2,52	0,93	0,35
Ácido	-0,54		-1,19	0,24	,	0,53		0,41	-0,78			0,23	-0,34	0,47	-0,74	0,46

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 20 – Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Primeiro Mês

1 aocia 2	,	CBU.	itudos	GO IVI			n par	1110	uuto D	110	1 1111101	10 101	Co			
	_	Impres	ssão Global				abor Corpo da Cerv	eja						Aroma	ı	
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p
	S		t		S		t		S		t		S		t	
Adocicado	0,35	0,86	0,41	0,69	0,00	0,82	0,00	1,00	0,61	0,89	0,68	0,50	0,93	0,89	1,04	0,30
Chulé	-0,92	1,08	-0,85	0,40	-0,31	1,22	-0,25	0,80	-1,83	1,27	-1,45	0,15	0,09	1,40	0,06	0,95
Mofo	1,05	0,94	1,11	0,27	0,26	1,00	0,26	0,80	2,01	1,28	1,57	0,12	-0,34	2,03	-0,17	0,87
Maça Verde	-0,11	1,08	-0,11	0,92	-0,99	1,04	-0,96	0,34	0,87	0,65	1,34	0,18	1,11	0,86	1,30	0,20
Floral	0,45	0,43	1,03	0,31	0,47	0,57	0,83	0,41	0,03	0,54	0,06	0,95	-0,30	0,61	-0,50	0,62
Manteiga	0,88	0,78	1,14	0,26	0,58	0,83	0,70	0,49	0,24	0,73	0,33	0,74	0,18	0,70	0,26	0,79
Frutado	0,41	0,46	0,89	0,38	0,21	0,54	0,40	0,69	-0,27	0,41	-0,65	0,52	-0,47	0,43	-1,09	0,28
Maracujá	0,09	0,60	0,14	0,89	0,23	0,75	0,31	0,76	-0,27	0,67	-0,41	0,69	0,22	0,66	0,33	0,74
Cítrico	0,51	0,47	1,09	0,28	0,09	0,53	0,16	0,87	0,27	0,46	0,58	0,56	0,22	0,49	0,45	0,65
Banana	-0,97	1,86	-0,52	0,61	-2,27	2,75	-0,83	0,41	0,54	1,61	0,34	0,74	-3,43	3,42	-1,00	0,32
Picante	-1,02	1,43	-0,71	0,48	-0,22	1,59	-0.14	0.89	0,45	1,02	0,45	0,66	0,74	1,18	0,63	0,53
Terra Molhada	0,50	0,61	0,81	0,42	0,11	1,40	0,08	0,94	0,57	0,95	0,60	0,55	-0,24	1,94	-0,13	0,90
Vômito	0,81	2,52	0,32	0,75	0,68	1,38	0,49	0,63	0,92	2,53	0,36	0,72	-1,10	1,35	-0,82	0,42
Caramelo	1,93	2,96	0,65	0,52	2,58	4,00	0,64	0,52	-1,25	2,39	-0,52	0,60	2,98	4,71	0,63	0,53
Vinagre	-0,75	0,69	-1,08	0,28	-0,81	0,78	-1,05	0,30	-0,47	0,77	-0,62	0,54	-0,59	0,86	-0,69	0,50
Refrescante	0,14	0,63	0,22	0,83	1,36	0,56	2,44	0.02*	0,73	0,52	1,42	0,16	0,82	0,59	1,40	0,17
Ovo Podre	0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00		
Milho Cozido	-5,74	5,83	-0,99	0,33	-4,46	4,59	-0,97	0,33	-2,51	2,76	-0,91	0,37	-0,74	1,56	-0,47	0,64
Ester	-0,25	0,66	-0,38	0,70	0,28	0,55	0,51	0,61	-1,56	0,94	-1,66	0,10	-0,56	0,56	-1,00	0,32
Ácido	0,19	0,48	0,39	0,70	0,29	0,54	0,54	0,59	0,28	0,51	0,55	0,58	0,69	0,55	1,27	0,21

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Os coeficientes do modelo bem com desvios padrão, Estatística t e níveis descritivos associados são apresentados para cada uma das variáveis provindas do questionário CATA na Tabela 1. Considerando um nível de significância de 5% é possível observar que para a *Impressão Global* o descritor *Maçã Verde* foi significativo, tendo um efeito positivo na escala hedônica dessa variável. Para o *Sabor* o descritor *Vômito* possui um efeito negativo significativo. No *Corpo da Cerveja* o descritor *Picante* teve um efeito positivo significativo enquanto *Vômito* um efeito negativo significativo. Pela Tabela 20 o termo *Refrescante* foi significativo para o modelo tendo um efeito positivo quando considerada a variável *Sabor*.

### Segundo Mês

Tabela 21 – Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Segundo Mês

	•	Impre	essão Global								Sabor				Are	oma
		r				(	Corpo da Cer	veja								
	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p
	S				S				S				S			
Adocicado	0,94	0,56		0,10	0,88	0,78	1,13	0,26	0,46	0,67	0,68	0,50	0,60	0,65	0,93	0,36
Chulé	-0,56			0,46	-0,87	1,01	-0,86	0,39	-0,25	1,14	-0,22	0,82	0,07	1,00	0,07	0,95
Mofo	-1,25	0,70	-1,79	0,08	-0,56	0,93	-0,60	0,55	0,33	1,02	0,32	0,75	-2,37	0,64	-3,72	<0,001*
Maça Verde	-0,10	0,61	-0,17	0,87	0,19	0,67	0,28	0,78	-0,86	0,64	-1,34	0,18	-0,17	0,59	-0,28	0,78
Floral	0,27	0,45	0,60	0,55	0,28	0,58	0,48	0,63	0,78	0,56	1,39	0,17	0,18	0,46	0,40	0,69
Manteiga	1,57	0,66	2,39	0,02*	1,30	1,03	1,26	0,21	0,99	0,95	1,04	0,30	0,94	0,85	1,11	0,27
Frutado	-0,40	0,49	-0,83	0,41	-0,48	0,55	-0,87	0,38	0,11	0,41	0,28	0,78	0,04	0,38	0,11	0,91
Maracujá	0,45	0,43	1,04	0,30	0,46	0,54	0,86	0,39	0,76	0,42	1,80	0,08	0,90	0,42	2,12	0,04*
Cítrico	0,21	0,43		0,63	0,22	0,49	0,45	0,65	0,53	0,37	1,42	0,16	-0,26	0,37	-0,71	0,48
Banana	1,46	1,16		0,21	2,27	1,29	1,75	0,08	1,10	1,04	1,05	0,30	0,21	0,73	0,29	0,77
Picante	1,17	0,47		0,01*	1,65	0,68	2,42	0,02*	0,77	0,46		0,10	0,78	0,38		0,05*
Terra Molhada	1,04	1,11	0,93	0,35	0,10	1,43	0,07	0,94	-0,22	1,81	-0,12	0,91	0,95	1,04	0,91	0,36
Vômito	-2,53	0,86	-2,96	<0,01*	-1,80	0,42	-4,27	0,00	-1,92	1,45	-1,33	0,19	-0,19	1,69	-0,11	0,91
Caramelo	-0,27	0,92	-0,29	0,77	0,84	1,43	0,59	0,56	0,05	0,58	0,09	0,93	0,42	0,58	0,73	0,47
Vinagre	-0,25	0,85	-0,30	0,77	0,10	0,96	0,11	0,92	0,29	0,76	0,38	0,71	0,23	0,71	0,33	0,75
Refrescante	0,97	0,46	2,12	0,04*	1,24	0,58	2,13	0,04*	1,33	0,41	3,23	<0,01*	-0,04	0,46	-0,08	0,93
Ovo Podre	0,00	0,00			0,00							~	0,00	0,00		
Milho Cozido	-0,35	0,94		0,72	-0,40	1,27	-0,31	0,76	-0,91	1,31	-0,69	0,49	0,78	0,88	0,88	0,38
Ester	-0,97	0,84	-1,15	0,25	-0,85	0,94	-0,91	0,37	0,75	0,77	0,97	0,34	-0,22	0,81	-0,28	0,78
Ácido	-0,22	0,48	-0,46	0,65	-1,02	0,57	-1,79	0,08	-0,48	0,51	-0,95	0,34	-0,31	0,43	-0,73	0,47

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 21, observou-se que os descritores manteiga, picante, vômito e refrescante da amostra A foram significativos para o modelo, em que manteiga, picante e refrescante tiveram efeito positivo com relação à escala hedônica associada à impressão global. Enquanto, vômito teve um efeito negativo na escala. Para o atributo sabor da amostra A, os descritores picante e refrescante foram significativos, ambos tendo efeitos positivos na escala hedônica. O descritor refrescante também foi significativo para o modelo, com relação ao atributo aroma da amostra A, tendo um efeito positivo na escala hedônica. Por fim, para o atributo corpo da amostra A, houve três descritores significativos mofo, maracujá e picante, em que o primeiro teve efeito negativo e os demais positivos na escala hedônica.

Na Tabela 22, para a amostra B, os descritores floral, refrescante, picante e caramelo, foram significativos para o modelo, levando em consideração o atributo impressão global, em que os três primeiros apresentaram efeito positivo e o último negativo na escala hedônica. Para os atributos sabor e aroma, os descritores banana e refrescante foram significativos em ambos os casos, com efeitos positivos para a escala hedônica.

Tabela 22 – Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Segundo Mês

	,	Impre	ssão Global			(	Corpo da Cer	veia		S	abor				Aron	na
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dn	Estatística t	Valor n	Coeficiente	dn	Estatística t	Valor r
	S	uр	Lstatistica	vaioi p	S	uр	Lstatistica	vaioi p	S	uр	Estatistica t	vaioi p	S	up .	Listatistica t	v aioi p
Adocicado	0.65	0,65	0,99	0,33	0.92	0,60	1,53	0,13	0.91	0,63	1.45	0,15	0.19	0,55	0,34	0,73
Chulé	-0,27	0,81	-0,33	0,74	-0,76	1,10	-0,69	0,49	-0,44	1,00	-0,44	0,66	-0,27	0,89	-0,30	0.76
Mofo	0,07	0,96	0,08	0,94	-0,24	1,65	-0,15	0,88	-0,62	1,09	-0,56	0,57	-0,25	1,00	-0,25	0,80
Maça Verde	-0,72	0,70	-1,03	0,31	0,65	0,63	1,04	0,30	-0,41	0,67	-0,61	0,54	-0,17	0,77	-0,22	0,83
Floral	1,29	0,53	2,44	0,02*	1,10	0,75	1,46	0,15	0,60	0,67	0,88	0,38	0,98	0,56	1,74	0,09
Manteiga	1,23	1,95	0,63	0,53	0,03	3,29	0,01	0,99	0,78	4,42	0,18	0,86	1,91	2,89	0,66	0,51
Frutado	0,35	0,48	0,72	0,47	-0,07	0,50	-0,14	0,89	0,43	0,51	0,85	0,40	0,42	0,42	1,00	0,32
Maracujá	0,46		0,83	0,41	0,24	0,67	0,36	0,72	0,74	0,59	1,27	0,21	0,64	0,44	1,45	0,15
Cítrico	0,22	0,45	0,48	0,63	-0,23	0,62	-0,37	0,72	0,05	0,56		0,93	-0,15	0,47	-0,32	0,75
Banana	1,66	1,12	1,48	0,14	2,99	0,96	3,13	<0,01*	2,41	0,96	2,52	0,01**	0,71	1,00	0,71	0,48
Picante	1,68	0,65	2,60	0,01**	1,25	0,98	1,28	0,21	0,61	0,84	0,73	0,47		0,77	1,14	0,26
Terra Molhada	-0,48	2,08	-0,23	0,82	-2,12	4,31	-0,49	0,62	-1,33	3,06	-0,44	0,66	-2,07	2,66	-0,78	0,44
Vômito	-1,01	0,84	-1,19	0,24	-0,80	1,11	-0,72	0,47	-0,03	1,23	-0,03	0,98	-1,23	1,03	-1,20	0,23
Caramelo	-1,42	0,70	-2,04	0,04*	-0,90	1,04	-0,86	0,39	-0,88	1,32	-0,67	0,50	-0,73	1,03	-0,71	0,48
Vinagre	0,77	0,59	1,31	0,19	0,28	0,80	0,35	0,73	1,10	0,66		0,10	1,19	0,64	1,84	0,07
Refrescante	1,81	0,61	2,98	<0,01*	1,74	0,78	2,24	0,03*	1,20	0,57	2,13	0,04*	0,92	0,55	1,67	0,10
Ovo Podre	2,19	2,01	1,09	0,28		3,43	0,60	0,55	-1,73	4,35	-0,40	0,69	1,24	2,82	0,44	0,66
Milho Cozido	-1,99	1,07	-1,85	0,07	-0,48	1,42	-0,34	0,74	-0,16		-0,20	0,84	-0,46	0,86	-0,54	0,59
Ester	-1,15	0,65	-1,78	0,08	-0,67	0,96	-0,69	0,49	-0,23	1,05	-0,22	0,83	-0,74	0,72	-1,04	0,30
Ácido	0,72	0,48	1,51	0,13	0,00	0,59	0,00	1,00	0,15	0,48	0,31	0,76	0,69	0,46	1,50	0,14

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

#### Terceiro Mês

Tabela 23 – Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Terceiro Mês

		Impress Cerveja	são Global			S	abor			A	roma				Corpo	da
	Coeficientes	dp	Estatística t	Valor p	Coeficientes	dp	Estatística t	Valor p	Coeficientes	dp	Estatística t	Valor p	Coeficientes	dp	Estatística t	Valor p
Adocicado	-0,35	0,89	-0,39	0,70	-0,02	1,00	-0,02	0,98	-0,03	0,63	-0,05	0,96	0,22	0,75	0,29	0,77
Chulé	-0,97	0,76	-1,28	0,20	-1,45	0,97	-1,50	0,14	-1,48	1,69	-0,87	0,39	-2,47	1,00	-2,47	0,02*
Mofo	-0,72	1,00	-0,72	0,48	-0,66	1,18	-0,56	0,58	-0,73	1,04	-0,70	0,48	-0,99	0,83	-1,20	0,23
Maça Verde	1,37	0,72	1,90	0,06	0,72	0,88	0,82	0,42	0,61	0,57	1,08	0,28	0,03	0,50	0,06	0,95
Floral	0,44	0,75	0,58	0,56	0,40	0,76	0,52	0,60	0,22	0,64	0,35	0,73	0,07	0,59	0,12	0,91
Manteiga	-0,51	1,38	-0,37	0,71	-0,27	1,49	-0,18	0,86	0,05	0,83	0,06	0,95	0,37	0,51	0,73	0,47
Frutado	-0,22	0,63	-0,34	0,74	-0,06	0,75	-0,08	0,94	-0,40	0,56	-0,72	0,47	-0,06	0,48	-0,12	0,90
Maracujá	0,19	1,25	0,15	0,88	1,24	1,47	0,84	0,40	-0,03	0,78	-0,04	0,97	0,22	0,78	0,29	0,78
Cítrico	0,66	0,57	1,16	0,25	-0,06	0,63	-0,10	0,92	0,94	0,53	1,78	0,08	0,45	0,47	0,97	0,33
Banana	1,27	0,98	1,29	0,20	1,93	1,34	1,44	0,15	1,99	0,72	2,77	0,01**	0,70	1,19	0,58	0,56
Picante	-0,49	0,65	-0,77	0,45	-0,28	0,82	-0,34	0,74	-0,82	0,86	-0,95	0,34	-0,04	0,70	-0,05	0,96
Terra Molhada	-0,70	1,05	-0,67	0,50	-0,02	1,11	-0,02	0,98	-0,95	1,14	-0,83	0,41	-0,28	1,29	-0,22	0,83
Vômito	-1,67	1,06	-1,57	0,12	-1,84	1,36	-1,36	0,18	0,17	0,97	0,18	0,86	-1,09	0,65	-1,69	0,09
Caramelo	0,80	1,49	0,54	0,59	-0,02	1,28	-0,02	0,99	1,32	1,51	0,87	0,39	-0,66	1,10	-0,60	0,55
Vinagre	-0,97	0,73	-1,33	0,19	-0,64	0,78	-0,81	0,42	-0,08	0,68	-0,12	0,90	-0,31	0,53	-0,59	0,56
Refrescante	0,90	0,64	1,42	0,16	0,51	0,78	0,65	0,52	0,88	0,62	1,42	0,16	0,74	0,52	1,41	0,16
Ovo Podre	0,02*	1,09	0,02*	0,99	-1,02	2,91	-0,35	0,73	0,60	1,25	0,48	0,63	0,90	1,31	0,69	0,49
Milho Cozido	0,28	0,80	0,35	0,73	-0,26	0,97	-0,26	0,79	-0,17	1,90	-0,09	0,93	0,85	1,31	0,65	0,52
Éster	0,52	0,83	0,63	0,53	0,65	1,24	0,53	0,60	0,09	1,14	0,08	0,94	0,58	0,87	0,66	0,51
Ácido	0,08	0,55	0,15	0,88	0,09	0,63	0,14	0,89	0,10	0,48	0,20	0,84	-0,47	0,43	-1,11	0,27

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: elaborada pela autora.

Na Tabela 23, amostra A no tempo 60, observou-se que o descritor banana foi significativo, considerando o atributo aroma, tendo efeito positivo na escala hedônica. Para o atributo corpo, o descritor chulé foi significativo, tendo um efeito negativo na escala hedônica associada a essa variável.

Na Tabela 24, amostra B no tempo 90, os descritores refrescante e ácido foram significativos para o atributo impressão global, em que a primeira teve um efeito positivo e a segunda um efeito negativo na escala hedónica. Para o atributo sabor, os descritores picante e vômito foram significativos, sendo o primeiro de efeito positivo e o segundo de efeito negativo na escala hedônica. Com relação ao atributo aroma, os descritores floral, picante e refrescante foram significativos, em que todos tiveram efeito positivo na escala hedônica deste atributo. Para o atributo corpo, não houve descritores significativos.

Tabela 24 – Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Terceiro Mês

	•	Impre	ssão Global							S	abor				Aron	na
						(	Corpo da Cerv	/eja								
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p
	S		t		S		t		S		t		S		t	
Adocicado	0,05	0,93	0,05	0,96	0,45	1,04	0,43	0,67	0,30	0,86	0,35	0,73	0,15	0,74	0,20	0,84
Chulé	-1,24	1,02	-1,22	0,22	-0,49	0,98	-0,51	0,61	-0,93	0,83	-1,11	0,27	-0,09	0,65	-0,14	0,89
Mofo	-0,19	0,93	-0,21	0,84	0,28	1,03	0,27	0,78	-0,75	1,20	-0,62	0,54	-0,53	0,95	-0,56	0,58
Maça Verde	-0,29	0,70	-0,42	0,68	-0,01	1,07	-0,01	0,99	0,51	0,63	0,82	0,42	1,02	0,81	1,26	0,21
Floral	1,04	0,62	1,69	0,10	0,74	0,68	1,08	0,28	1,43	0,67	2,13	0,04*	0,98	0,64	1,53	0,13
Manteiga	-1,84	1,39	-1,33	0,19	-1,94	1,39	-1,39	0,17	-0,70	0,99	-0,71	0,48	-0,12	0,96	-0,13	0,90
Frutado	-0,43	0,58	-0,75	0,46	0,06	0,63	0,09	0,93	-0,24	0,57	-0,42	0,68	0,17	0,56	0,30	0,76
Maracujá	-0,71	0,91	-0,79	0,43	-0,60	0,72	-0,84	0,40	-0,80	0,65	-1,23	0,22	-0,42	0,57	-0,73	0,47
Cítrico	0,31	0,58	0,54	0,59	0,64	0,53	1,20	0,23	-0,03	0,61	-0,05	0,96	0,38	0,53	0,72	0,48
Banana	3,83	4,67	0,82	0,41	3,46	4,21	0,82	0,41	0,47	2,20	0,21	0,83	3,21	3,56	0,90	0,37
Picante	1,51	0,81	1,86	0,07	1,98	0,58	3,42	<0,01*	1,37	0,63	2,18	0,03*	0,61	0,66	0,92	0,36
Terra Molhada	-0,28	1,65	-0,17	0,87	0,99	1,28	0,77	0,44	0,41	1,66	0,25	0,80	-0,45	0,83	-0,54	0,59
Vômito	-1,13	0,73	-1,55	0,13	-1,48	0,64	-2,30	0,02*	-0,93	0,78	-1,18	0,24	-0,54	0,72	-0,75	0,45
Caramelo	-3,07	2,72	-1,13	0,26	-3,27	2,17	-1,51	0,14	-1,55	1,74	-0,89	0,38	-1,47	1,22	-1,20	0,23
Vinagre		0,67	-1,38	0,17	-0,34	0,66	-0,52	0,60	-1,03	0,79	-1,30	0,20	0,38	0,61	0,62	0,54
Refrescante	1,64	0,52	3,15	<0,01*	1,04	0,63	1,66	0,10	1,17	0,53	2,21	0,03*	-0,08	0,65	-0,12	0,91
Ovo Podre	0,40	1,00	0,40	0,69	0,20	1,06	0,19	0,85	0,69	2,67	0,26	0,80	2,57	1,71	1,50	0,14
Milho Cozido	0,16	1,22	0,13	0,90	0,32	0,90	0,36	0,72	-1,16	1,03	-1,13	0,26	0,57	0,72	0,80	0,43
Ester	-0,17	1,25	-0,14	0,89	0,14	1,02	0,13	0,89	-0,38	1,35	-0,28	0,78	0,19	1,02	0,18	0,86
Ácido	-1,28	0,53	-2,43	0,02*	-1,01	0,56	-1,82	0,07	0,13	0,57	0,23	0,82	-0,13	0,53	-0,25	0,80

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 25 – Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Quarto Mês

	-	Impres	ssão Global				_			S	abor				Aron	na
		1				C	Corpo da Cerv	eja								
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p
	S		t		S		t		S		t		S		t	
Adocicado	-0,28	0,84	-0,34	0,74	-0,69	0,92	-0,75	0,45	-0,93	0,79	-1,18	0,24	-0,21	1,07	-0,19	0,85
Chulé	-1,65	1,06	-1,56	0,12	-1,72	1,13	-1,52	0,13	-0,43	2,07	-0,21	0,84	0,07	2,97	0,02*	0,98
Mofo	0,46	1,00	0,46	0,65	0,56	1,10	0,51	0,61	-0,79	1,30	-0,61	0,55	0,61	1,44	0,42	0,67
Maça Verde	0,79	0,48	1,64	0,10	0,87	0,57	1,52	0,13	0,40	0,59	0,69	0,49	0,55	0,61	0,91	0,37
Floral	-0,02	0,68	-0,03	0,97	-0,18	0,71	-0,25	0,80	0,17	1,14	0,15	0,88	-0,07	0,74	-0,10	0,92
Manteiga	-0,13	1,03	-0,13	0,90	-0,45	1,35	-0,33	0,74	-0,09	2,03	-0,05	0,96	0,91	1,35	0,67	0,50
Frutado	1,39	0,60	2,33	0,02*	1,04	0,75	1,39	0,17	1,17	0,62	1,89	0,06	0,17	0,76	0,22	0,83
Maracujá	-0,13	0,65	-0,19	0,85	0,11	0,77	0,14	0,89	1,17	0,61	1,93	0,06	0,38	0,75	0,51	0,61
Cítrico	0,38	0,53	0,71	0,48	0,16	0,59	0,27	0,78	0,80	0,57	1,40	0,16	0,93	0,65	1,43	0,16
Banana	0,25	0,94	0,27	0,79	0,81	1,05	0,77	0,44	1,15	1,67	0,69	0,50	1,04	2,50	0,42	0,68
Picante	1,37	1,16	1,18	0,24	1,05	1,76	0,60	0,55	1,66	1,24	1,34	0,19	0,36	2,39	0,15	0,88
Terra Molhada	0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00		
Vômito	0,64	0,67	0,96	0,34	-1,40	1,16	-1,21	0,23	-0,77	1,75	-0,44	0,66	0,83	1,21	0,69	0,49
Caramelo	1,71	1,42	1,21	0,23	2,34	1,26	1,87	0,07	-0,53	2,24	-0,24	0,81	-0,25	1,89	-0,13	0,90
Vinagre	-0,45	0,81	-0,55	0,58	-0,74	0,83	-0,90	0,37	0,23	0,78	0,29	0,77	-0,52	1,01	-0,51	0,61
Refrescante	0,99	0,64	1,54	0,13		0,71	1,47	0,14	0,72	0,73	0,98	0,33	0,99	0,77	1,28	0,20
Ovo Podre	-2,24	1,53	-1,47	0,15	-1,84	1,83	-1,01	0,32	1,65	1,41	1,17	0,25	-0,14	3,62	-0,04	0,97
Milho Cozido	0,75	1,08	0,70	0,49	-0,33	0,96	-0,34	0,73	0,84	1,04	0,80	0,42	0,46	1,22	0,37	0,71
Ester	0,26	1,22	0,21	0,83	-0,25	1,45	-0,18	0,86	-1,12	1,23	-0,91	0,37	0,90	1,01	0,89	0,37
Ácido	0,15	0,54	0,27	0,79	-0,36	0,60	-0,60	0,55	-0,67	0,59	-1,14	0,26	-0,40	0,75	-0,54	0,59

O asterisco (\*) destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Analisando a Tabela 25, amostra A no tempo 90 para o atributo impressão global, o descritor frutado foi significativo com efeito positivo na escala hedônica. Para os demais atributos não houve descritores significativos.

Na Tabela 26, amostra B no tempo 90, observou-se que para os atributos impressão global e aroma, o descritor ovo podre foi significativo, tendo efeito negativo na escala hedônica, em ambos os casos. Para o atributo sabor, o descritor refrescante foi significativo, tendo efeito positivo na escala. Por fim, para o atributo corpo, não houve descritores significativos.

### Quarto Mês

Tabela 26 – Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Quarto Mês

	-										_					
		Impres	ssão Global			S	Sabor			A	roma			Corpo	da Cerveja	
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p
	S		t		S		t		S		t		S		t	
Adocicado	-0,21	0,92	-0,23	0,82	-0,04	1,14	-0,04	0,97	0,34	0,84	0,41	0,68	0,27	1,06	0,26	0,80
Chulé	0,38	1,25	0,31	0,76	-0,65	1,49	-0,44	0,66	1,60	1,12	1,43	0,16	0,45	1,35	0,33	0,74
Mofo	0,72	0,90	0,80	0,42	0,66	1,06	0,62	0,54	-1,04	0,73	-1,42	0,16	0,32	0,92	0,35	0,73
Maça Verde	1,69	0,86	1,96	0,05	0,96	1,20	0,80	0,42	0,58	0,68	0,85	0,40	1,89	1,11	1,71	0,09
Floral	-0,69	0,95	-0,72	0,47	-0,55	1,40	-0,39	0,70	0,18	1,26	0,14	0,89	-1,38	1,34	-1,03	0,30
Manteiga	0,15	1,35	0,11	0,91	0,80	1,53	0,52	0,60	0,80	1,36	0,59	0,56	0,04	1,30	0,03	0,97
Frutado	0,98	0,80	1,24	0,22	1,03	0,97	1,06	0,29	0,91	0,67	1,35	0,18	0,80	0,82	0,98	0,33
Maracujá	0,02	0,75	0,03	0,98	0,03	0,95	0,03	0,97	-0,65	0,64	-1,01	0,31	-0,58	0,86	-0,68	0,50
Cítrico	-0,34	0,65	-0,53	0,60	-0,44	0,85	-0,52	0,61	-0,55	0,65	-0,84	0,40	-0,33	0,69	-0,47	0,64
Banana	1,32	2,14	0,62	0,54	-0,09	2,00	-0,04	0,96	-0,64	1,66	-0,39	0,70	2,17	2,65	0,82	0,42
Picante	0,39	1,05	0,38	0,71	0,10	1,42	0,07	0,95	0,64	1,25	0,51	0,61	0,69	1,81	0,38	0,70
Terra Molhada	0,64	1,21	0,53	0,60	-0,36	1,47	-0,24	0,81	-1,09	1,18	-0,92	0,36	0,05	2,07	0,02	0,98
Vômito	1,62	1,07	1,51	0,13	-0,18	1,79	-0,10	0,92	0,04	1,20	0,04	0,97	1,24	1,10	1,13	0,26
Caramelo	-1,63	1,43	-1,14	0,26	-0,89	2,44	-0,36	0,72	0,50	1,07	0,47	0,64	-1,47	1,62	-0,91	0,37
Vinagre	-0,98	0,52	-1,90	0,06	-0,37	0,80	-0,47	0,64	0,20	0,51	0,40	0,69	-0,73	0,68	-1,07	0,29
Refrescante	1,86	1,02	1,82	0,07	2,73	1,13	2,42	0,02*	1,31	1,10	1,19	0,24	2,08	1,30	1,60	0,11
Ovo Podre	-2,38	1,01	-2,37	0,02*	-1,21	1,33	-0,91	0,37	-1,96	0,87	-2,26	0,03*	-1,34	1,06	-1,26	0,21
Milho Cozido	0,10	1,06	0,10	0,92	0,12	1,24	0,09	0,92	-1,17	1,11	-1,05	0,29	-0,08	0,79	-0,10	0,92
Ester	-1,53	1,60	-0,96	0,34	-0,32	2,45	-0,13	0,90	-3,48	1,80	-1,94	0,06	-1,72	2,56	-0,67	0,50
Ácido	0,63	0,60	1,06	0,29	-0,07	0,76	-0,09	0,92	-0,41	0,66	-0,63	0,53	0,52	0,58	0,89	0,38

<sup>(\*)</sup> O asterisco destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

### Quinto mês

Tabela 27 – Resultados do Modelo PLSR para Produto A no Quinto Mês

	-	Impres	ssão Global				C 1- C			5	Sabor				Aron	na
							Corpo da Cerv	eja								
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística t	Valor I
	S		t		S				S				S			
Adocicado	-0,07	0,48	-0,14	0,89	-0,20	0,63	-0,32	0,75	-0,40	0,38	-1,04	0,30	0,20	0,51	0,39	0,69
Chulé	0,42	1,20	0,35	0,73	-0,82	1,40	-0,59	0,56	0,13	1,00	0,13	0,90	0,21	0,94	0,22	0,83
Mofo	-1,55	1,52	-1,02	0,31	-1,63	1,10		0,14	-1,86	0,92		0,05*	-0,64	0,82	-0,79	0,43
Maça Verde	-0,09	0,43	-0,20	0,84	-0,31	0,53	-0,60	0,55	0,17	0,40		0,67	-0,10	0,54	-0,18	0,8€
Floral	0,63	0,58	1,08	0,28	0,31	0,51	0,60	0,55	0,44	0,50		0,38	0,36	0,65	0,56	0,57
Manteiga	1,13	0,54	2,09	0,04*	1,58	0,67	2,38	0,02*	0,31	0,52		0,55	0,92	0,72	1,28	0,21
Frutado	0,29	0,35	0,84	0,41	0,12	0,43	0,27	0,79	0,73	0,38	1,90	0,06	0,63	0,46	1,39	0,17
Maracujá	0,21	0,44	0,47	0,64	0,25	0,52	0,48	0,63	0,62	0,41	1,53	0,13	0,23	0,61	0,38	0,71
Cítrico	0,37	0,41	0,89	0,38	0,70	0,46		0,13	0,15	0,38		0,70	-0,03	0,52	-0,06	0,95
Banana	-0,71	1,43	-0,49	0,62	-0,28	1,45		0,85	1,20	1,58		0,45	0,48	1,17	0,41	0,68
Picante	0,32	0,66	0,49	0,63	0,15	0,76	0,20	0,84	0,76	0,62	1,21	0,23	-0,31	0,63	-0,49	0,63
Terra Molhada	-0,70	0,82	-0,85	0,40	-0,82	1,23	-0,67	0,51	0,19	0,63		0,77	-1,03	1,21	-0,85	0,40
Vômito	0,87	1,54	0,57	0,57	-0,50	1,69		0,77	-0,42	1,37	-0,31	0,76	-0,31	1,32	-0,24	0,81
Caramelo	0,22	0,61	0,36	0,72	0,42	0,78	0,54	0,59	0,72	0,69		0,30	0,47	0,75	0,64	0,53
Vinagre	-0,99	0,72	-1,38	0,17	-0,47	0,71	-0,65	0,52	-1,23	0,58	-2,14	0,04*	-0,30	0,55	-0,55	0,59
Refrescante	0,38	0,43	0,89	0,37	0,58	0,43	1,34	0,18	0,23	0,43	0,54	0,59	0,62	0,42	1,47	0,15
Ovo Podre	0,18	1,78	0,10	0,92	-1,27	1,49	-0,85	0,40	-0,28	1,97	-0,14	0,89	0,51	1,34	0,38	0,70
Milho Cozido	0,41	3,57	0,12	0,91	1,80	2,92		0,54	2,84	2,37	1,20	0,23	-0,85	1,36	-0,62	0,53
Ester	-1,26	0,65	-1,95	0,05	-2,65	0,62	-4,29	<0,01*	-0,12	0,47	-0,26	0,80	-1,31	1,49	-0,87	0,38
Ácido	-0,28	0,45	-0,61	0,55	-0,63	0,53	-1,19	0,24	0,27	0,36	0,74	0,46	0,06	0,55	0,12	0,91

<sup>(\*)</sup> destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 27, amostra A no tempo 120,\_com relação à impressão global, o descritor manteiga foi significativo, tendo efeito positivo na escala hedônica. Para o atributo sabor, os descritores manteiga e éster foram significativos, o primeiro com efeito positivo e o segundo negativo na escala hedônica. Com relação ao atributo a aroma, os descritores mofo e vinagre foram significativos, ambos com efeitos negativos para a escala hedônica desta variável. Para o atributo corpo não houve descritores significativos.

Tabela 28 – Resultados do Modelo PLSR para Produto B no Quinto Mês

		Impre	ssão Global							S	abor				Aron	na
						(	Corpo da Cer	veja								
	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p	Coeficiente	dp	Estatística	Valor p
	S		t		S		t		S		t		S		t	
Adocicado	-0,08	0,58	-0,14	0,89	0,74	0,53	1,39	0,17	0,58	0,53	1,08	0,28	-0,03	0,41	-0,08	0,93
Chulé	-0,10	1,04	-0,10	0,92	-0,68	0,74	-0,91	0,36	-0,17	0,93	-0,18	0,86	-0,35	1,11	-0,32	0,75
Mofo	-1,06	1,17	-0,90	0,37	-0,01	0,84	-0,02	0,99	-0,27	1,49	-0,18	0,86	-0,33	1,19	-0,28	0,78
Maça Verde	-0,24	0,77	-0,31	0,75	-0,20	0,71	-0,28	0,78	-0,02	0,53	-0,03	0,98	1,12	0,69	1,61	0,11
Floral	0,18	0,43	0,41	0,68	-0,48	0,60	-0,80	0,42	-0,43	0,54	-0,79	0,43	-0,47	0,50	-0,94	0,35
Manteiga	0,84	0,43	1,93	0,06	1,48	0,51	2,89	<0,01*	0,06	0,54	0,12	0,91	0,20	0,43	0,48	0,63
Frutado	0,57	0,42	1,37	0,17	0,21	0,57	0,36	0,72	0,15	0,54	0,28	0,78	0,28	0,38	0,73	0,47
Maracujá	0,32	0,45	0,71	0,48	0,62	0,54	1,15	0,25	0,65	0,55	1,18	0,24	0,30	0,45	0,66	0,51
Cítrico	-0,57	0,45	-1,25	0,21	-0,34	0,50	-0,69	0,49	0,34	0,45	0,75	0,46	-0,67	0,41	-1,66	0,10
Banana	1,13	0,63	1,80	0,08	1,31	0,84	1,56	0,12	0,65	0,85	0,76	0,45	0,04	0,45	0,10	0,92
Picante	0,88	0,89	0,99	0,33	0,87	0,94	0,93	0,36	0,44	1,01	0,44	0,66	1,55	0,77	2,01	0,05*
Terra Molhada	0,22	0,80	0,27	0,78	0,11	1,07	0,10	0,92	0,47	0,75	0,63	0,53	0,39	0,66	0,59	0,56
Vômito	-0,69	0,54	-1,29	0,20	-1,62	0,65	-2,49	<0,01*	0,04	0,80	0,05	0,96	0,04	0,67	0,06	0,95
Caramelo	0,32	0,79	0,41	0,69	0,83	0,59	1,41	0,16	1,02	0,98	1,04	0,30	0,89	0,64	1,39	0,17
Vinagre	-0,75	0,70	-1,06	0,29	-0,28	0,69	-0,41	0,68	-0,43	0,72	-0,59	0,55	-0,78	0,67	-1,16	0,25
Refrescante	1,02	0,30	3,40	<0,01*	0,97	0,46	2,10	0,04*	1,23	0,37	3,30	<0,01*	0,65	0,38	1,71	0,09
Ovo Podre	-0,17	0,47	-0,36	0,72	-2,38	2,40	-0,99	0,32	-1,07	1,15	-0,93	0,36	2,24	2,24	1,00	0,32
Milho Cozido	1,47	1,56	0,95	0,35	1,46	0,75	1,95	0,05	1,57	0,56	2,79	0,01**	2,02	1,12	1,81	0,07
Ester	-1,34	1,00	-1,35	0,18	-4,43	1,26	-3,53	<0,01*	0,99	2,09	0,47	0,64	-1,29	0,52	-2,48	0,02*
Ácido	-0,21	0,44	-0,47	0,64	-0,13	0,53	-0,24	0,81	-0,70	0,50	-1,39	0,17	-0,23	0,38	-0,60	0,55

<sup>(\*)</sup> destaca os descritores significativos a um nível de significância de 5%. Para (\*\*) o termo é significativo a um nível de significância de 1%. Fonte: Elaborada pela autora.

Na Tabela 28, amostra B no tempo 120, com relação ao atributo impressão global, o descritor refrescante foi significativo, com efeito positivo na escala hedônica. Já para o atributo sabor, os descritores manteiga, refrescante, vômito e éster foram significativos, sendo os dois primeiros com efeitos positivos e os dois últimos com efeitos negativos na escala hedônica. Para o atributo aroma, os descritores refrescante e milho cozido foram significativos, ambos com efeitos positivos na escala hedônica, ou seja, mesmo o descritor milho cozido sendo *off-flavour*, este influenciou de forma positiva o atributo aroma da cerveja. Por fim, para o atributo corpo, os descritores picante e éster foram significativos, sendo que o primeiro obteve efeito positivo e o segundo efeito negativo com relação à escala hedônica desta variável.

## 5 CONCLUSÃO

Verificou-se que, tanto na amostra A (18 °C) quanto na amostra B (1 °C) não houve crescimento de bactérias láticas e acéticas durante o armazenamento. No entanto, houve crescimento de leveduras (*Saccharomyces* e não *Saccharomyces*) em ambas as amostras. O comportamento da carga microbiana de leveduras (*Saccharomyces* e não *Saccharomyces*) pode estar associado aos limiares de aceitação comprometida (LAC) e limiares de rejeição (LR) das amostras.

Com relação aos limiares hedônicos, não foram detectados os LAC e LR para nenhum dos atributos da amostra A (18 °C). No entanto, foram detectados, na amostra B (1 °C), os LAC para os atributos impressão global e sabor no tempo T3 (60 dias após o envase), o que indica que, a partir do tempo T3, a aceitação sensorial dos atributos mencionados da amostra B começa a ser significativamente inferior ao da mesma amostra no tempo T0. O LR foi detectado para a amostra B, atributo sabor, no tempo T3, o que significa que, a partir do tempo T3, considerando a intensidade desse atributo, começa a haver rejeição sensorial do produto.

Com a aplicação do CATA foi possível verificar que dos vinte descritores utilizados para descrever cada amostra, os mais citados pelos julgadores foram: cítrico, frutado, ácido, maracujá, floral, refrescante e vinagre. Dentre esses, os descritores cítrico, frutado e ácido, foram citados em todos os tempos, para as duas amostras. Sendo esses *off-flavours*, ocasionados pelo crescimento de leveduras, durante o processo produtivo da bebida. Em geral, foi possível verificar que os julgadores de diferentes meses descreveram as amostras A e B de forma similar, identificando que as amostras A e B não sofreram alterações significativas ao longo do tempo (120 dias), quando consideradas as percepções sensoriais dos julgadores. Também foi possível verificar efeitos positivos ou negativos significativos de alguns descritores na escala hedônica.

A atividade antioxidante das amostras A e B, não foi influenciada pelo tempo de armazenamento e alcançou valores similares ao das cervejas industriais, enquanto os teores de compostos fenólicos totais foram influenciados pelo tempo de armazenamento. Esse comportamento, possivelmente, se deve à alta carga microbiana de leveduras observadas no estudo.

# REFERÊNCIAS

ALVES, F. **História da cerveja**. 2013. Disponível em: http://vidadeblogueiro.net/welovebeer/. Acesso em: 20 set. 2017.

ARAUJO, F.B, *et. al.* Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p.121-128, maio-ago. 2003.

ARES, G.; DAUBER, C.; FERNÁNDEZ, E; GIMÉNEZ, A.; VARELA, P. Penalty analysis based on cata questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. **Food Quality and Preference**, v.32, p.65–76, 2014.

BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. **2015 Style Guidelines:** Beer Style Guidelines. 2015. Disponível em: https://www.bjcp.org/docs/2015\_Guidelines\_Beer.pdf. Acesso em: 08 set. 2017.

BRASIL. Decreto n° 6.871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n° 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Ministério da Agricultura Pecuaria e Abastecimento-Mapa**, Brasília, DF, 04 jun. 2009.

BREWERS ASSOCIATION. **Cervejas Artesanais**. 2016. Disponível em: www.brewers association.org . Acesso em: 19 mai. 2019.

CARVALHO, LG. **Dossiê Técnico:** Produção de Cerveja. Rio de Janeiro: Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTc=. Acesso em: 10 out. 2017.

CASTRO, Monica Maria de Sillos. **Leveduras contaminantes do processo de fermentação alcoólica**: **diversidade taxonômica e metabólica**. 1995. 135f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1995.

THE R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Versão 3.6.3, 29 fev. 2020. Disponível em: https://cran.r-project.org/doc/manuals/fullrefman.pdf. Acesso em: 25 jun. 2018.

CHRISTENSEN, C. M. O Dilema da Inovação. São Paulo: Makron Books, 2001.

DRAGONE, G.; MUSSATO, S.I.; NOGUEIRA, A.D.; SILVA, J.B.A. Revisão: Produção de Cerveja: Microrganismos Deteriorantes e Métodos de Detecção. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.10, n.4, p.240-251, out./dez. 2007.

DUTCOSKY, Silvia Deboni. **Análise sensorial de alimentos.** 3. ed. Curitiba: Champagnat, 2013.

FERNANDES, Flávia Alexandra Pedro. Melhoria dos indicadores microbiológicos em

**linhas de enchimento de cerveja em barril.** 2012. 204f. Dissertação (Mestrado Tecnologia e Segurança Alimentar) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2012.

FERREIRA, R.H.; VASCONCELOS, M.C.R.L.; JUDICE, V.M.M.; NEVES, J.T.R. Inovação na fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte. **Perspectivas em Ciência da Informação**, n.16, p.171-191, 2011.

GAMA, E.M; NASCENTES, C.C.; MATOS, R.P.; RODRIGUES, G.C.; RODRIGUES, G.D. A simple method for the multielemental analysis of beer using total reflection X-ray fluorescence. **Talanta**, Belo Horizonte, v.174, p.274-278, mai. 2017.

GONÇALVES, D. B. Estudo do efeito do envelhecimento forçado na evolução de off-flavours em cerveja, 2017. Disponível em: http://www.cerveja-magazine.pt/wp-content/uploads/2017/07/DIOGOBARROS-RELATORIOFINAL.pdf. Acesso em: 09 maio 2019.

GUIDO, L.F. **Factors affecting beer flavour stability**: studies on the whole process from barley to beer. 2004. Tese (Doutorado) - Universidade do Porto, Porto, 2004.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food:** Principles and practices. 2.ed. New York: Springer, 2010. 596p.

LIMA FILHO, Tarcísio. **Proposição da metodologia dos limiares hedônicos: limiar de aceitação comprometida e limiar de rejeição.** 2015. 109f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2015.

LINHARES, M. F. D. **Análises físico-químicas e sensoriais em cerveja tipo pilsen**. 2016. Trabalho de conclusão (Relatório de Estágio) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

MANZANO, M.; IACUMIN, L.; VENDRAME, M.; CECCHINI, F.; COMI, G.; BUIATTI, S. Craft beer microflora identification before and after a cleaning process. **Journal of Institute Brewing**, v.117, n.3, p.343-351, 2011.

MARTINS, Cândida Filipa Gonçalves. **Caracterização fenotípica e genotípica de bactérias do ácido acético isoladas de alimentos.** 2012. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 2012.

MASTANJEVIC, K.; KRSTANOVIC, V.; LUKINAC, J.; JUKIC, M.; LUCAN, M.; MASTANJEVIC, K. Craft brewing – is it really about the sensory revolution? **Kvasny prumysl**, v.65, p.13-16, 2019.

MEGA, J. K.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A produção de cerveja no Brasil. **Revista CITINO**. v.1, n.1, p.34-42, 2011.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, CRC Press, Inc. 1987. 302p.

MELLO, L. S. S.; SIQUEIRA, V. L. **Estudo de Cervejas Ácidas**. Niterói: Universidade Federal Fluminense, 2017.

MEVIK, B.H.; WEHRENS, R.; LILAND K. H. **PLS**: Partial Least Squares and Principal Component Regression, 2019. Disponível em: https://cran.rediris.es/web/packages/pls/pls.pdf. Acesso em: 25 jun. 2018.

MICHEL, M.; KOPECKA, J.; MEIER-DORNBERG, T.; ZARNKOW, M.; JACOB, F.; HUTZLER, M. Sreening for new brewing yeasts in the non-Saccharomyces sector with Torulaspora delbrueckii as model. **Yeast**, v.33, p.129-144, 2016.

MORADO, R. Larousse da cerveja, a história e as curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo. 1. ed. São Paulo: Alaúde, 2017.

OLIVEIRA, J. R. N.; OLIVEIRA, T. S.; GHEDINI, B. G. V.; GIL, E. S. Antioxidant and vasodilatory activity of comercial beers. **Journal of Functional Foods**, v.34, p.130–138, 2017.

OLIVEIRA, Nayara Aline Muniz de. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. 2011. 44f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em microbiota industrial) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

PHAM, T.; WIMALASENA, T.; BOX, W. G.; KOIVURANTA, K.; STORGARDS, E.; SMART, K. A.; GIBSON, B. R. Evaluation of ITS PCR and RFLP for differentiation and identification of brewing yeast and brewery "Wild" yeast contaminants. **Journal of Institute Brewing**, v.117, n.4, p.556-568, 2011.

PIACENTINI, K. C.; SAVI, G. D.; OLIVO, G.; SCUSSEL, V. M. Quality and occurrence of deoxynivalenol and fumonisins in craft beer. **Food Control**, v.50, p.925-929, 2015.

POVEDA, J. M.; RUIZ, P.; SESENA, S.; PALOP, M. L. Ocurrence of biogenic amine-forming lactic acid bacteria during a craft brewing process. **Food Science and Technology**, v.85, p.129-136, 2017.

RABELLO, F. F. Produção de Cerveja. Revista Agroambiental. p.145-155, 2009.

REITENBACH, Amanda Felipe. **Desenvolvimento de nariz eletrônico para a detecção de compostos voláteis na cerveja.** 2016. 248f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2016.

RIBEIRO, B. D.; PEREIRA, K. S.; NASCIMENTO, R. P.; COELHO, M. A. Z. **Microbiologia industrial:** Alimentos. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

RYGIELSKA, J. K.; ADAMENKO, K.; KUCHARSKA A. Z.; PROROK, P.; PIÓRECKI, N. Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. **Food Chemistry**. v.281, p.147-153, p. 2019.

SALIMBENI, Juliana Faria; MENEGUETTI, Mariana Pereira Devolio; ROLIM, Tatiana Ferretti. **Caracterização da água e sua influência sensorial para produção de cerveja artesanal**. 2016. 59f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade São Francisco, Campinas, 2016.

- SANNA, V; PRETTI, L. Effect of wine barrel ageing or sapa addition on total polyphenol content and antioxidant activities of some Italian craft beers. Internat. **J. Food Sci. Technol.** v.50, n.3, p.700–707, 2015.
- SEBRAE. **Relatório de Inteligência:** Cervejas Artesanais. [s.l.], 2015. Disponível em: https://sebraeinteligenciasetorial.com.br/login?back=/produtos/relatorios-de-inteligencia/cervejas-artesanais/55c4ad3614d0c01d007ffeae&anchor=download. Acesso em: 16 out. 2018.
- SHIBAMOTO, T.; BJELDANES, L. F. **Introdução à toxicologia de alimentos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 320 p.
- SILVA, Carlos Henrique Pessôa de Menezes. **Microbiologia da Cerveja**. São Paulo: Livraria da Física, 2019.
- SILVA, Gisele Chaves da. **Desenvolvimento de métodos para identificação de** *off-flavours* **em cerveja**. 2013. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.
- SIMIQUELI, Andréa Alves. **Perfil descritivo otimizado associado ao treinamento**: uma nova aplicação para a indústria de alimentos. 2014. 112f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2014.
- SOUZA, R. S.; FEVEIRO, D. M. Correlação entre a redução da carga microbiológica e a inativação da enzima invertase na etapa de pasteurização da cerveja. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**, Paraná, v.2, n.1, p.15-15, jan. 2017.
- TEIXEIRA, Samira Patrícia dos Reis Borges. **Compostos responsáveis pelo** *off-flavour* **da cerveja:** caracterização e impacto sensorial. 2016. 99f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar) Departamento de Química e Bioquímica, Universidade do Porto, Porto, 2016.
- THEAAG, M. M.; BENASSI, M. T. Perfil Flash: uma opção para análise descritiva rápida. **Brazilian Journal of Food Thechnology**. Campinas, p. 140-151. ago. 2010.
- VAUGHAN, A.; O'SULLIVAN, T.; SINDEREN, D. V. Enhancing the microbiological stability of malt and beer A review. **Journal of the Institute of Brewing**, v.111, n.4, p.355-371, 2005.
- VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas:** ciência e tecnologia. 2.ed. São Paulo: Blucher, 2016.
- VOGUEL, Cristine. **Avaliação da adição de pequenas frutas** (*berries*) na produção de cerveja artesanal: análise físico-química, sensorial, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Laranjeiras do Sul. 2017. 82f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2017.
- VRIESEKOOP, F.; KRAHL, M.; HUCKER, B.; MENZ, G. 125<sup>th</sup> Anniversary Review: Bacteria in brewing: The good, the bad and ugly. **Journal Institute Brewing**, v.118, p.335-

345, 2012.

ZHAO, H.; WATERHOUSE, D.S. Interactions Between Proteins and Polyphenols in Beer. **Food Chemistry**, v.2, p.550-553, 2018.