



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**FARMACÊUTICAS**



**MILENNA SANTOS SILVA**

**ESTUDO DA PRODUÇÃO DE CERVEJA *LAGER* COM**  
**MOSTO DE ALTA DENSIDADE UTILIZANDO O ÓLEO DE**  
**COCO COMO SUPLEMENTO**

Feira de Santana-BA  
2018

**MILENNA SANTOS SILVA**

**ESTUDO DA PRODUÇÃO DE CERVEJA *LAGER* COM  
MOSTO DE ALTA DENSIDADE UTILIZANDO O ÓLEO DE  
COCO COMO SUPLEMENTO**

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

Orientador: Prof. Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho

Coorientador: Dr. Diego Tresinari dos Santos

Feira de Santana - BA  
2018

### Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

S578e Silva, Milenna Santos  
Estudo da produção de cerveja *LAGER* com mosto de alta densidade utilizando o óleo de coco como suplemento / Milenna Santos Silva.-2018

66 f.: il.  
Orientador: Giovani Brandão Mafra de Carvalho  
Coorientador: Diego Tresinari dos Santos  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.

1. Cerveja - Suplementação 2. Mosto cervejeiro – Óleo de coco 3. Produção de Etanol. I. Carvalho, Giovani Brandão Mafra de, orient. II. Santos, Diego Tresinari dos, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. III. Título.

CDU: 615.1:663.4

*Dedicoeste trabalho totalmente a Deus, pois o interesse foi Dele em fazer com que eu me qualificasse, me mostrou o orientador, me capacitou na seleção, me instruiu nos trabalhos, separou as pessoas para me ensinar e decidiu o dia para a conclusão. Ele é essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, meu Senhor, meu Pai e Salvador.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Ser Supremo, pela vida e a possibilidade de empreender esse caminho evolutivo, por propiciar tantas oportunidades de estudos e por colocar em meu caminho pessoas solícitas e preciosas.

A MINHA FAMÍLIA, pelo incentivo e apoio diário, especialmente ao meus pais, irmão, sobrinho, cunhada e prima. Obrigada pelo carinho de sempre.

AOS AMIGOS de Mestrado que compartilharam comigo esses momentos de aprendizado, especialmente à Geiza, Júnior, Kayque e Gabriela (IC).

AO MEU ORIENTADOR, pela oportunidade de ingressar no mestrado e ter me ensinando a ter muita paciência, perseverança e fé.

A INSTITUIÇÃO DE ENSINO TÉCNICO SENAI FEIRA DE SANTANA pelo apoio no desenvolvimento das análises, especialmente minhas coordenadoras Fernanda Pinto e Renata Pinto pela disponibilidade de horário e consentimento na disponibilidade dos laboratórios.

AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICA DA UEFS, representado pelo Prof. Dr. Alexsandro Branco, pelos ensinamentos partilhados, sem esmorecimento e a todos os professores que fizeram parte desse caminhar.

**“Como é feliz o homem que teme o Senhor e tem grande prazer em seus mandamentos! Seus descendentes serão poderosos na terra, serão uma geração abençoada, de homens íntegros. Grande riqueza há em sua casa, e sua justiça dura para sempre. A luz raia nas trevas para o íntegro, para quem é misericordioso, compassivo e justo. Feliz é o homem que empresta com generosidade e que com honestidade conduz os seus negócios. O justo jamais será abalado; para sempre se lembrarão dele. Não temerá más notícias; seu coração está firme, confiante no Senhor.”**

**Salmo 112, Bíblia Sagrada**

## RESUMO

A produção e o consumo de cerveja são por muito tempo conhecidos, porém com o crescente avanço de estudos científicos e tecnológicos o mercado tem se tornado cada vez mais competitivo. As diversas variedades de produtos lançados no mercado, principalmente com a expansão das cervejarias artesanais tem levado o setor produtivo cervejeiro, como um todo, a desenvolver métodos de minimizar seus custos e aumentar o lucro da sua produção. Visando este objetivo o foco do projeto é suplementar o mosto cervejeiro com um produto natural e regional do Nordeste Brasileiro, o óleo de coco, para que a levedura utilize-o em prol de melhorar a resistência da membrana celular e assim suportar por mais tempo a alta pressão osmótica e por consequência produzir mais etanol. A adição de óleo de coco (*Cocos nucifera* L.) no mostro antes da fermentação da cerveja, tem o objetivo de avaliar a produtividade volumétrica em etanol e o rendimento real em etanol através das análises estatísticas além de acompanhar a viabilidade da levedura através desta suplementação melhorando assim sua resistência ao alto teor de álcool do meio. Os fatores experimentais foram concentração do mosto de alta densidade, *high gravity*, de 15,96°, 17°, 19,5°, 22°P e 23,04°P e teor de óleo de coco 0,045, 0,5, 110, 220 e 265 µL durante as fermentações. Os pontos ótimos da produtividade volumétrica em etanol (Qp) e o do rendimento real em Etanol RRE, foram com mosto de aproximadamente 19,5 °P e 110 µL do teor de óleo de coco, alcançando valores de 0,362 g/L.h e 8,237%, respectivamente, sendo a viabilidade celular máxima maior que 91%. De acordo com a análise estatística os efeitos dos fatores de teor de óleo de coco quadrático [Fto]<sup>2</sup>, concentração do mosto linear [Fcm], e concentração do mosto quadrático[Fcm]<sup>2</sup> sobre a produtividade volumétrica em etanol e o rendimento real de etanol foram significativos a 95% de confiança, com esses resultados obtidos no projeto, demonstrou-se que é possível a aplicação desta tecnologia, aumentando a produtividade utilizando os mesmos equipamentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cerveja. Óleo de Coco (*Cocos nucifera* L.). Suplementação. Produtividade Volumétrica. Etanol. Viabilidade.

## ABSTRACT

The beer's production and consumption are known for a long time and with the growing scientific and advance in technological scientific studies the market has become increasingly competitive. The most varieties of product launched offered on the market, especially with the expansion of craft breweries have taken the productive sector Brewer, as a whole, to develop methods to minimize its costs and increase production's profit. Aiming at this objective the focus of the Project is to supplement the wort brewed with a natural product of Brazilian Northeast, coconut oil, in order to yeast use it to improve their resistance of the cell membrane for support higher osmotic pressure and then produce more ethanol. The addition of coconut oil (*Cocos nucifera L.*) in the wort before the beer fermentation, aims to evaluate volumetric productivity and real yield on ethanol through statistical analyses in addition to monitor the viability of the yeast – the procedure is able to improve yeast's resistance to higher alcohol concentrations. The experimental factors were high density wort concentration, *high gravity*, of the 15.96°, 17°, 19.5°, 22°P and 23.04° P and coconut oil content of 0.045, 0.5, 110, 220 and 265 µL during the fermentations. The great points of the volumetric productivity in ethanol (Qp) and the actual income in ethanol RRE, were with concentrated approximately 19.5 brain and 110 µL of coconut oil, reaching values of 0.362 g/L.h and 8.237%, respectively, and cell viability maximum greater than 91%. According to the statistical analysis, the effects of the factors of quadratic coconut oil content [Fcm]<sup>2</sup>, linear wort concentration [Fcm], and quadratic must concentration [Fcm]<sup>2</sup> on volumetric productivity and the real yield of ethanol were 95% confidence significant. The result obtained in this Project exhibit the possibility of applying the technology in order to increasing productivity, using the same equipment.

**KEYWORDS:** Beer. Coconut oil (*Cocos nucifera L.*). Supplementation. Volumetric Productivity. Ethanol. Viability.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura do Ácido Oleico .....	21
<b>Figura 2</b> - Coco da Bahia e seus produtos.....	22
<b>Figura 3</b> - Principais enzimas do malte.....	22
<b>Figura 4</b> - Grãos de Cevada e Malte, respectivamente.....	23
<b>Figura 5</b> - Ação da alfa-amilase (*) sobre amilopectina: endoenzima que hidrolisa ligações $\alpha$ -1,4 internas até 1 ou 2 resíduos de glicose antes de uma ligação $\alpha$ -1,6. Ação da alfa-amilase (*) sobre amilose: endoenzima que hidrolisa ligações $\alpha$ -1,4 internas liberando de maltose e maltotriose.....	24
<b>Figura 6</b> - Ação da beta-amilase (#) sobre amilose: exoenzima que hidrolisa ligações $\alpha$ -1,4 na extremidade não redutora liberando sequencialmente moléculas de glicose. O mesmo ocorre com a amilopectina até 2 resíduos de glicose antes de uma ligação $\alpha$ -1,6, com a liberação de glicoses e alfa-dextrina.....	24
<b>Figura 7</b> - Fluxograma do processo produtivo do mosto.....	25
<b>Figura 8</b> - Processo de obtenção de energia através da respiração aeróbica.....	26
<b>Figura 9</b> - Processo bioquímico da fermentação alcoólica (etapa anaeróbica).....	27
<b>Figura 10</b> - Malte para cerveja <i>Lager</i> utilizado no preparo do mosto.....	32
<b>Figura 11</b> - Pesagem do Malte.....	32
<b>Figura 12</b> - Trituração do Malte.....	32
<b>Figura 13</b> - Rampa de tempo e temperatura durante o preparo do mosto.....	33
<b>Figura 14</b> - Preparo do mosto.....	33
<b>Figura 15</b> - Teste do Amido indicando presença de amido (A) e ausência de amido (B).....	33
<b>Figura 16</b> - Filtração do Mosto em panela de fundo falso.....	34
<b>Figura 17</b> - Lúpulos de amargor (A) e amora (B).....	34
<b>Figura 18</b> - Mosto pronto e engarrafado para armazenamento.....	35
<b>Figura 19</b> - Sistema experimental de fermentação e o Óleo de Coco comercial utilizado.....	36
<b>Figura 20</b> - Gráfico de Pareto que representa a estimativa de efeito de $Q_p$ á 5% da probabilidade de significância em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco. ....	44
<b>Figura 21</b> - Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa a $Q_p$ em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco.....	46
<b>Figura 22</b> - Gráfico dos valores observados em relação aos valores preditos para o $Q_p$ .....	46
<b>Figura 23</b> - Gráfico de Pareto que representa a estimativa de efeito de RRE á 5% da probabilidade de significância em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco. ....	48
<b>Figura 24</b> - Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa o RRE em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco.....	51
<b>Figura 25</b> - Gráfico dos valores observados em relação aos valores preditos para o RRE.....	51
<b>Figura 26</b> - Velocidades específicas de Crescimento celular ( $\mu_x$ ), Consumo de substrato ( $\mu_s$ ) e Produção de etanol ( $\mu_p$ ) do ponto ótimo da fermentação.....	53

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição em ácidos graxos (% 100g) do óleo de coco extra virgem.....	20
<b>Tabela 2</b> - Características Físico-Químicas do Óleo de Coco.....	21
<b>Tabela 3</b> - Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) - $2^2$ com os níveis reais e codificados, respectivamente, utilizada na suplementação do mosto.....	30
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros físico-químicos da amostra de óleo de coco com diversas referências	39
<b>Tabela 5</b> - Valores de produtividade volumétrica em etanol, concentração de etanol, células totais e viabilidade celular nos ensaios do planejamento do fatorial completo $2^2$ com quatro ensaios de ponto central e mais quatro ensaios em estrela rotacional.....	41
<b>Tabela 6</b> - Estimativa dos efeitos, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância para a ( $Q_p$ ) seguindo um planejamento fatorial $2^2$ com quatro ensaios de ponto central e mais quatro ensaios em estrela rotacional.....	43
<b>Tabela 7</b> - Análise de variância da regressão do modelo que representa a $Q_p$ .....	44
<b>Tabela 8</b> - Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância do planejamento fatorial $2^2$ com mais quatro ensaios de ponto central e quatro ensaios em estrela rotacional (DCCR) para o modelo que representa a $Q_p$ .....	45
<b>Tabela 9</b> - Estimativa dos efeitos, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância para o Rendimento Real em Etanol (RRE) seguindo um DCCR com quatro ensaios de ponto central e mais quatro ensaios em estrela rotacional $2^2$ .....	48
<b>Tabela 10</b> - Análise de variância da regressão para o modelo que representa o rendimento real de etanol (RRE).....	49
<b>Tabela 11</b> - Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância do planejamento fatorial $2^2$ com mais quatro ensaios de ponto central e quatro ensaios em estrela rotacional (DCCR) para o modelo que representa a RRE.....	50
<b>Tabela 12</b> - Análise estatística de $Y_p/s$ na fermentação de mosto de alta densidade com adição de óleo de coco.....	53

## LISTA DE SIGLAS

A.C. - Antes de Cristo

B.O.D - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

FAN - *Free Amino Nitrogen*

GAF - Grau Aparente de Fermentação

h - horas

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

RRE – Rendimento Real de Etanol

*S. cerevisiae* - *Saccharomyces cerevisiae*

Senai – Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial

Silva – Milenna Santos Silva (Autora)

UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana

$Y_{p/s}$  – Fator de Conversão de Substrato em Produto

$\Delta S$  – Consumo de Substrato (Extrato Aparente)

## Sumário

<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	15
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	15
<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
<b>1. PRODUÇÃO DE CERVEJA</b> .....	15
<b>2. SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL</b> .....	18
2.1. ÓLEO DE COCO.....	18
<b>3. PROCESSO INDUSTRIAL DA PRODUÇÃO DE CERVEJA</b> .....	22
3.1. MOSTURAÇÃO.....	22
3.2. FILTRAÇÃO, FERVURA E RESFRIAMENTO.....	24
3.3. FERMENTAÇÃO.....	26
3.3.1 METABÓLITOS INDICATIVOS DA VIABILIDADE E CONCENTRAÇÃO CELULAR	28
3.4. MATURAÇÃO E CLARIFICAÇÃO.....	29
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	30
4.1. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE COCO.....	30
4.2. DESIGN EXPERIMENTAL.....	30
4.3. PREPARO DO MOSTO.....	31
4.4. FERMENTAÇÃO.....	35
4.5. MÉTODOS ANALÍTICOS.....	36
4.5.1. ANÁLISES DO ÓLEO DE COCO.....	36
4.5.2. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS (°Brix).....	37
4.5.3. DETERMINAÇÃO DO pH.....	37
4.5.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ETANOL, DENSIDADE E EXTRATO APARENTE	37
4.5.5. DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR.....	38
4.5.6. DETERMINAÇÃO DA PRODUTIVIDADE VOLUMÉTRICA EM ETANOL.....	38
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE COCO.....	38
5.2 EFEITOS DO TEOR DO ÓLEO DE COCO E DA CONCENTRAÇÃO DO MOSTO NA PRODUÇÃO DA CERVEJA POR SACCHAROMYCES CEREVISIAE.....	40
5.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E MODELAGEM MATEMÁTICA EMPÍRICA PARA PRODUTIVIDADE VOLUMÉTRICA EM ETANOL (QP).....	42
5.4 DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO ÓTIMA PARA A PRODUTIVIDADE VOLUMÉTRICA EM ETANOL (Qp).....	47
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA PARA O RENDIMENTO REAL EM ETANOL (RRE).....	47
5.5 DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO ÓTIMA PARA O RENDIMENTO REAL EM ETANOL (RRE) 52	
5.6 CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO.....	52
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	54
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	54
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	55
<b>APÊNDICES</b> .....	60
<b>INTRODUÇÃO</b>	

O mercado de cerveja no Brasil alcançou o terceiro lugar no ranking mundial de produção, ficando atrás apenas da China (35 bilhões) e EUA (23,6 bilhões). Com uma produção de mais de 14 bilhões de litros em 2016, o setor gera cerca de 2,2 milhões de empregos e sua receita corresponde a 1,6% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, contribuindo com R\$ 23 bilhões de impostos ao ano. O consumo médio de cerveja no Brasil é cerca de 68 litros por habitante/ano, muito a frente dos nossos vizinhos da América Latina, porém quem lidera o consumo per capita (litros/habitante) é a República Checa com consumo de 143 litros por habitante/ano e a Alemanha com consumo de 106 litros por habitante/ano.

De acordo com a legislação brasileira, a cerveja é definida como uma bebida obtida a partir da fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada, água potável e adição de lúpulos com ação de leveduras, uma bebida carbonatada de teor alcoólico entre 3 e 8% (v/v). A fermentação é a principal etapa do processo cervejeiro, consiste na conversão dos açúcares presentes nos grãos de malte em álcool e sua efetividade depende de várias operações anteriores, incluindo o preparo das matérias-primas e a seleção das leveduras. Após a fermentação são realizadas etapas de tratamento da cerveja, para conferir as características organolépticas (sabor, odor, textura) desejadas ao produto final. O sabor da cerveja é determinado pelos tipos de compostos produzidos durante as etapas de fermentação e maturação que exercem uma maior influência nas características sensoriais da cerveja, pelo tipo de levedura e matéria prima utilizada.

Com o aumento do consumo de cerveja no Brasil e no mundo, sua produção tem alavancado a competitividade entre as empresas do setor, em virtude disso tem amadurecido a própria empresa da necessidade de inovar suas produções, visando proporcionar aos seus clientes produtos com alta tecnologia e qualidade. É notável o crescente estudo científico e tecnológico da produção de bebidas no intuito de sempre melhorar a qualidade, aliado a isso diminuir os custos de produção, aumentar o rendimento produtivo e tornar o mercado nacional e internacional competitivo. Assim, uma aposta tecnológica é a produção de cerveja a partir de mosto concentrado de alta densidade, ou seja, com maiores concentrações de açúcares (*high-gravity*), tem o objetivo de obter uma cerveja com teor alcoólico mais elevado, podendo ser diluída posteriormente, diminuindo a necessidade de investimentos em novos equipamentos. A análise da viabilidade das leveduras cervejeiras a partir da suplementação do mosto com óleo de coco é outro ponto da pesquisa, pois visa melhorar as condições fisiológicas das leveduras cervejeiras tornando-as mais tolerantes ao stress imposto pelas altas concentrações de álcool por ela mesma produzida.

A utilização de frutas, ervas e óleos essenciais, além de outros produtos naturais, como ingredientes especiais da produção de cerveja, tem sido bem aceito por consumidores tanto pela diversidade de notas degustativas que é conferida à cerveja, quanto pela possibilidade de incorporação desses produtos de baixo valor econômico, porém ricos em nutrientes e favoráveis à fermentação. Daí se explica o motivo da grande expansão das cervejarias artesanais atualmente. Segundo os dados oficiais do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o número de cervejarias artesanais registradas no Brasil cresceu 91% nos últimos três anos, saltando de 356 estabelecimentos em 2014 para 679 em 2017. Somente no ano passado, o país ganhou 186 novas fábricas dessas cervejarias artesanais.

As leveduras cervejeiras são microrganismos eucarióticos, unicelulares do Reino Fungi, com necessidades nutritivas básicas praticamente iguais às dos seres vivos, que, para renovarem seu protoplasma e exercerem suas atividades, necessitam de fontes de energia. A parede celular dos fungos é constituída por polissacarídeos, proteínas, pigmentos e lipídeos. Esses lipídeos chamados de ácidos graxos celulares, são derivados de duas fontes diferentes: lipídeos endógenos reciclados (proteínas degradadas) e fonte externa (absorção de ácidos graxos, óleos e triacilgliceróis).

O uso de lipídios ou gorduras na alimentação humana sempre se fizeram presentes na podendo ser de origem animal ou de óleos vegetais. Esses nutrientes são muito importantes para o organismo e não devem faltar na dieta, pois eles fornecem ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K). O Óleo de Coco (*Cocos nucifera L*) pode ser utilizado tanto superficial, na derme, quanto pela ingestão. Produto abundante no Nordeste e de baixo custo, os ácidos graxos presentes no óleo de coco são os saturados (triglicerídeo de cadeia média) e insaturados (mono ou poliinsaturados de cadeia longa).

Neste sentido, o presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fermentação da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) e no Laboratório de Microbiologia do Senai - FSA, visando contribuir com os estudos sobre os efeitos da suplementação do mosto sobre as leveduras na produção da cerveja.

## OBJETIVO GERAL

Obter novas tecnologias para a produção de cervejas com mosto de alta densidade, utilizando óleo de coco como suplemento.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o óleo de coco utilizado como suplemento no mosto cervejeiro;
- Avaliar a Produtividade Volumétrica em Etanol (Qp) frente à utilização do óleo de coco na Suplementação do Mosto Cervejeiro (SMC) de alta densidade (17 °P);
- Avaliar o Rendimento Real em Etanol (RRE) frente à utilização do óleo de coco na Suplementação do Mosto Cervejeiro (SMC) de alta densidade (17 °P);

## REVISÃO DA LITERATURA

### 1. PRODUÇÃO DE CERVEJA

Segundo Oetterer (2006), as cervejas são agrupadas em dois tipos: as *Ale* e as do tipo *Lager*. As cervejas do tipo *Ale* são de alta fermentação e normalmente possuem graduação alcoólica superior a 5%, são mais encorpadas e frutadas que as *Lager*, no entanto mais adocicadas e leves. As cervejas do tipo *Lager* são de baixa fermentação, possui sabor suave, graduação alcoólica em torno de 3,58% e são as mais comuns em todo o mundo.

A água é o componente em maior quantidade na cerveja (cerca de 93%) (ALMEIDA e SILVA, 2008). A água usada na indústria cervejeira, de captações municipais ou próprias, é aquela adequada à alimentação humana, sendo sua composição química adaptada nas fábricas às diversas exigências do processo (com pH na faixa onde as enzimas do malte e atuam para a transformação do amido em açúcares fermentescíveis; promoção a extração das moléculas amargas e aromáticas do lúpulo, bem como na boa coagulação do material mucilaginoso conhecido como *trub*, durante a fervura), filtração, fermentação (permitir uma fermentação asséptica) e acondicionamento (desenvolver cor e *flavour* característicos do tipo de cerveja a ser fabricada). Dessa forma, a água usada na cervejaria deve ser insípida e inodora para não interferir nas propriedades organolépticas da cerveja acabada (CRUZ, 2007).

O Malte utilizado na cervejaria é obtido usualmente a partir das cevadas de variedades selecionadas especificamente para esta finalidade. A cevada é uma gramínea do gênero *Hordeum*, parente próxima do trigo, e sua cultura é efetuada em climas temperados. Na América do Sul é produzida em algumas partes do Rio Grande do Sul durante o inverno, e a vizinha Argentina é a grande produtora (CARVALHO *et al.*, 2009).

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

Para a preparação do malte as sementes de cevada são submersas em água por 2 a 3 dias, para absorção de umidade até atingir 45% do seu peso, sendo controlada a temperatura e o teor de oxigênio. As sementes são, então, germinadas em condições controladas de temperatura e umidade. Durante o processo de germinação, são formados fito-hormônios que induzem à síntese de  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases, além de  $\beta$ -glicanases, xilanases e proteases. Essas enzimas são usadas pela semente para a hidrólise do amido de reserva do grão, fornecendo açúcares fermentescíveis. Quando a concentração das enzimas aumenta ao máximo, as sementes são secas e moídas através de vapor injetado a 45-50°C (KOBLITZ, 2008). Na segunda fase da secagem ocorre a caramelização do malte, onde o mesmo atinge temperatura de 80-120°C e umidade 4-5% garantindo assim uma maior validade.

O Lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira pertencente à família das moráceas e originária de zonas temperadas. O lúpulo é uma planta dióica, isto é, apresenta flores masculinas e femininas em indivíduos diferentes, não havendo, portanto, planta hermafrodita (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001). Para a indústria cervejeira somente interessam as flores femininas não fecundadas, que contém lupulina, material resinoso, de sabor amargo, onde predominam resinas, antocianinas, taninos e  $\alpha$ -ácidos (*humulonas*) (OETTERER, 2006).

Leveduras são fungos do filo dos *Ascomycota*, unicelulares, eucariotos e sua reprodução é assexuada do tipo brotamento/gemulação. As leveduras utilizadas para a fermentação em cervejaria são espécies do gênero *Saccharomyces*. Elas consomem os açúcares do mosto fornecidos pelo malte e pelos adjuntos, transformando-os em álcool e gás carbônico (CO<sub>2</sub>). Por esse motivo, a levedura cervejeira não deve ser considerada como matéria prima, uma vez que é utilizada apenas como agente de transformação bioquímica dos ingredientes usados na fabricação da cerveja, através da fermentação alcoólica (VENTURINE FILHO; CEREDA, 2001).

Embora tradicionalmente a indústria cervejeira classifique a espécie de levedura *Saccharomyces cerevisiae* como levedura do tipo *Ale* e as espécies *Saccharomyces carlsbergensis* ou *Saccharomyces uvarum*, como leveduras do tipo *Lager*, cientificamente essas espécies são classificadas como *Saccharomyces cerevisiae*. No entanto, leveduras tipo *Ale* são cepas específicas de *Saccharomyces cerevisiae* responsáveis pela chamada *top fermentation*, uma vez que ficam na superfície do mosto fermentado. Já as do tipo *Lager*, que

também são cepas específicas de *Saccharomyces cerevisiae*, realizam a *bottom fermentation*, depositando-se no fundo da dorna de fermentação (OETTERER, 2006).

A cerveja *Lager*, é produzida por leveduras de baixa fermentação com temperatura que varia entre 7 e 15°C, as quais floculam no final da fermentação (7 a 10 dias), sendo coletadas na base do fermentador; este tipo de cerveja é elaborada com linhagens de *Saccharomyces pastorianus* sendo mais popular mundialmente. As leveduras de alta fermentação, usadas na produção de cervejas do tipo *Ale*, fermentam em temperaturas entre 18 e 22°C. No final da fermentação (3 a 5 dias) as células se elevam à superfície do líquido formando uma película flutuante e espessa de biomassa que pode ser retirada desta superfície; as cervejas *Ale* são elaboradas com linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* sendo muito populares na Grã Bretanha. Embora exista esta diferenciação tecnológica no setor de cervejarias, geralmente a espécie de levedura cervejeira é a *Saccharomyces cerevisiae*, sendo que outras classificações são utilizadas para agrupar diferentes linhagens de *Saccharomyces* (DRAGONE et. al., 2010; CARVALHO et al., 2006; VARNAM E SUTHERLAND, 1994; VAUGHAN-MARTINI E MARTINI, 1993; ANDRIETTA et. al., 1999).

Durante a manipulação da cerveja, as estirpes de produção de fermento devem responder às flutuações na concentração de oxigênio dissolvido, pH, osmolaridade, concentração de etanol, suprimento de nutrientes e temperatura (SURANSKÁ, 2016) a osmotolerância de levedura pode ser um fator importante na produção de etanol (RAMOS, 2013), pois o estresse osmótico envolve a etapa do processo em que a levedura é inoculada em mosto, um meio complexo e altamente concentrado contendo altas concentrações de açúcares.

Segundo Gigson (2007), o aumento da osmolaridade do meio de propagação resulta em viabilidades reduzidas nas fermentações subsequentes de alta gravidade. O aumento da resistência ao estresse osmótico pode, portanto, ser correlacionado com a acumulação de glicerol intracelular em cepas de leveduras haplóides, onde as células submetidas à alta osmolaridade externa são capazes de sentir este estímulo efetivamente e responder pela ativação do glicerol de alta osmolaridade. As fermentações de alta gravidade podem ser melhoradas através da elevação da temperatura, de 10 a 15 °C (DRAGONE et al., 2003).

A temperatura em torno de 15°C leva a uma estrutura de membrana mais ordenada e, portanto, a uma redução da fluidez. A membrana é essencialmente modificada de uma forma cristalina líquida para um estado de gel (MOHAMMADI, 2011). Esta transformação altera várias funções de proteínas ligadas à membrana, como a importação e exportação de metabólitos e proteínas em toda a membrana plasmática.

A parede celular de levedura representa uma organela dinâmica que modifica a composição e a funcionalidade em resposta a estímulos externos. Suas membranas celulares são constituídas principalmente por três tipos de biomoléculas: fosfolípidios, esteróis e proteínas associadas à membrana. À medida que a fermentação avança, a concentração de etanol o mosto aumenta e as células estão expostas a níveis cada vez mais altos deste metabólito.

Considerando a influência significativa dos ácidos graxos insaturados de cadeia longa tanto no crescimento quanto no metabolismo das culturas de fermento, o desempenho da fermentação pode ser melhorado no caso da utilização do mesmo no mosto (BRAVI, 2014). No entanto, ainda não está claro se este melhor desempenho fermentativo é devido ao aumento da tolerância ao etanol, devido a alterações na composição da membrana lipídica, ou simplesmente devido à melhoria do estado nutricional do meio de crescimento, como sugerido por Techaparin (2017).

## **2. SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL**

### **2.1. ÓLEO DE COCO**

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é de origem asiática e foi introduzido no Brasil por volta de 1553, sua adaptação aos solos arenosos da costa brasileira permitiu o surgimento de uma classe produtora, ocupando um ecossistema com poucas possibilidades de outras explorações comerciais, cuja cadeia produtiva é muito diversificada e de grande significado social (SIQUEIRA, 2008).

Hoje, o coqueiro e seus frutos estão presentes em mais de 80 países ao redor do globo – na Indonésia, na África, na América central e do Sul e no Caribe -, tendo grande importância na vida e na economia de várias populações regionais. Em todo o Nordeste brasileiro, região responsável por cerca de 85% da produção nacional e mais de 90% da área plantada, Tassara (2017).

A espécie vegetal cujo nome científico é *Cocos nucifera* L., conhecida popularmente como Coco da praia ou coco da bahia, pertencente à família botânica *Arecaceae* (*Palmae*), subfamília *Cocoideae*, classificada como uma monocotiledônea que possui duas principais variedades: a Típica (variedade gigante) e a Nana (variedade anã), onde, os híbridos que são resultantes do cruzamento entre essas duas variedades são os mais utilizados atualmente (OLIVEIRA *et al.*, apud ARAGÃO, 2002; ANDRADE *et al.*, 2004). É uma planta de grande

importância social nos trópicos, por fornecer óleo, gorduras, minerais e vitaminas essenciais e fruto fresco. A casca do coco é usada na fabricação de cordas, tapetes, chapéus e encosto de veículos. O óleo de coco é usado na indústria alimentícia como óleo de mesa e também na produção de margarina, glicerol, cosméticos, detergentes sintéticos, sabão, velas e fluidos para freio de avião (MARTINS, 2015).

O Fruto do coqueiro é tipo drupa, ovóide quase globoso. A parte mais externa do fruto, chamada epicarpo, possui casca lisa de coloração esverdeada quando jovem. Durante seu desenvolvimento, o epicarpo torna-se castanho e desprende-se da porção mediana do fruto, chamada mesocarpo, que é fibrosa (MOURA; LEITE, 2017). Quando o fruto seca, o mesocarpo desprende-se quase totalmente, restando sobre a parte mais interna do fruto, muito duro, chamada endocarpo, apenas algumas fibras. No interior o endocarpo, o líquido levemente adocicado (água-de-coco), vai se tornando gelatinoso e adere ao endocarpo. O conhecido coco comestível, duro, branco, oleoso e saboroso é denominado de albúmen.

Com a idade, em seu processo de maturação, diminui a quantidade de água no interior do fruto, aumentando, ao mesmo tempo, a espessura e a consistência de sua polpa. Dessa polpa branca, carnuda e oleosa, extrai-se o leite de coco, de uso culinário por excelência. O bagaço, acrescido da polpa integral e de outras matérias, é também utilizado na fabricação de azeite, de sabão, de velas e de margarina. A fibra do coco, que envolve essa parte carnosa, tem ampla utilização no fabrico de capachos, passadeiras, sacos, broxas, escovas, redes, esteiras, enfim, uma infinidade de artefatos (MARTINS, 2015).

O coqueiro se adaptou bem na zona praeira, perto do mar e do sal, mas esta não é uma condição necessária para que seja cultivado com sucesso, preferindo as terras arenosas de regiões de clima quente. Atualmente, por exemplo, estão em andamento projetos de cultivo do coqueiro-da-baía em áreas irrigadas do sertão nordestino com bons rendimentos.

A propagação do coqueiro é feita por meio de coco-semente, provenientes das plantas matrizes ou mães. Entre os 6 e os 9 anos de idade, ele inicia a produção dos frutos, que se estabiliza quando chega aos 12 anos, alcançando uma média anual de 70 cocos por pé, Moura e Leite (2001).

Dentre uma gama de produtos provenientes dessa planta, destaca-se, o óleo de *Cocos nucifera* L. que é em geral, extraído a frio a partir da massa do coco e atualmente está sendo bastante utilizado como suplemento, na sua forma natural e industrializada segundo Oliveira, Bezerra e Nóbrega (2014).

O óleo de coco, obtido a partir da polpa do coco fresco maduro (*Cocos nucifera* L.), é composto por ácidos graxos saturados e ácidos graxos insaturados. Os ácidos graxos saturados

presentes no óleo de coco são: caprótico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico e esteárico e os insaturados são: oléico e linoleico, conforme descrito na Tabela 1. (NETO, 2013).

**Tabela 1** - Composição em ácidos graxos (% 100g) do óleo de coco extra virgem.

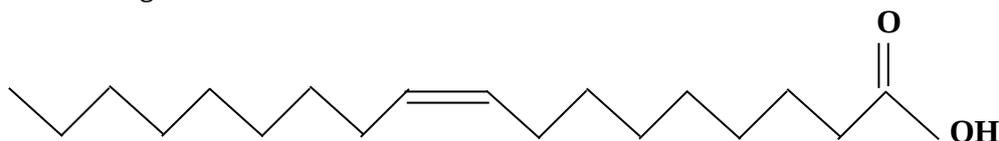
<i>Composição</i>	<i>Porcentagem (%)</i>
Ácido caprótico	0,38
Ácido caprílico	5,56
Ácido cáprico	4,99
Ácido láurico	45,78
Ácido mirístico	18,56
Ácido palmítico	8,85
Ácido esteárico	3,39
Ácido oleico	5,65
Ácido linoleico	0,94

Autor: Neto, 2013

Os resultados da Tabela 1 acima confirmam o alto teor de ácidos graxos saturados do óleo de coco, em razão, principalmente, do ácido láurico (45, 78%), que aliada à hidrogenação pode aumentar a estabilidade oxidativa do produto, além de alterar o ponto de fusão, aumentando a gama de utilização destas gorduras em produtos específicos (NETO, 2013).

O óleo de *Cocos nucifera* L. é composto de gorduras saturadas possuindo 70% a 80% de Triglicerídeo de Cadeia Média (TCM), por isso, se encontra na forma líquida (OLIVEIRA et al., apud ARAGÃO, 2002; ANDRADE et al., 2004). O conteúdo de ácidos graxos no óleo de coco extraído da polpa do fruto de *Cocos nucifera* L. é bastante elevado, onde o ácido láurico encontra-se em maior quantidade, sendo bastante utilizado na indústria de alimentos, cosméticos, sabão e na fabricação de álcool (OLIVEIRA et al., apud BALACHANDRAN et al., 1985).

Segundo Carrilho et al, (2006) para fermentar mostos super concentrados é importante a presença de aminoácidos no meio, como fonte de nutrientes para a levedura. Nenhuma fermentação acontece sem crescimento da biomassa de levedura e o microrganismo não cresce na ausência de material nitrogenado assimilável. O ácido oléico, Figura 1, é um ácido graxo monoinsaturado presente em óleos vegetais, e acordo com a *American Heart Association*, ingerir gorduras monoinsaturada com moderação pode ajudar a reduzir o colesterol ruim e conseqüentemente o risco de doença cardíaca e acidente vascular cerebral.

**Figura 1** - Estrutura do Ácido Oléico

Fonte: Silva (2017)

A resolução nº270/2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece as características físico-químicas do óleo de coco extra virgem conforme Tabela 2 abaixo.

**Tabela 2** - Características Físico-Químicas do Óleo de Coco

<b>ÍNDICES</b>	<b>UNIDADES</b>	<b>VALORES DE REFERÊNCIA</b>
Densidade relativa (20°C)	g/c m <sup>3</sup>	0,903 - 0,924
Índice de Refração (40°C)	-	1,448 - 1,450
Índice de Iodo	g I <sub>2</sub> / 100g	6 - 11
Índice de Saponificação	mg KOH/g	248 - 255
Matéria Insaponificável	%	< 1,5
Acidez, óleo refinado	g ácido oleico/100g	< 0,3
Acidez, óleo bruto	g ácido oleico/100g	< 5,0
Índice de Peróxido	meq/kg	< 10,0

Fonte: RDC nº 270, de 22 de Setembro de 2005

O óleo de coco se tornou muito popular no círculo de alimentação saudável, apesar do fato de ter sido por muitos anos, considerado uma gordura “ruim”, devido ao seu alto teor de gordura saturada. No entanto, atualmente, tem-se divulgado muitos estudos, particularmente sobre o óleo de coco extra virgem, afirmando que a gordura saturada não é a mesma que existem em outros tipos de óleos, devido à predominância de ácidos graxos de cadeia média (AGCM), que correspondem a 70-80% de sua composição. O fato do óleo de coco possuir maior quantidade de AGCM, diferentemente de outras gorduras saturadas, faz com que tenha um comportamento metabólico distinto em virtude de suas características estruturais. Existe, portanto, a necessidade de se desenvolver novos estudos e processamentos que possam assegurar os benefícios reais deste fruto e seus derivados (Figura 2), e assim permitam a utilização de forma correta e segura. Segundo Martins e Santos (2015), o teor de gordura saturada do óleo de coco é semelhante ao do leite humano, o que significa que ela é de fácil digestão, gerando energia rapidamente.

**Figura 2 - Coco da Bahia e seus produtos**

Fonte: Livro Frutas Brasil Frutas (2013) e Ceplac (2001)

### 3. PROCESSO INDUSTRIAL DA PRODUÇÃO DE CERVEJA

#### 3.1. MOSTURAÇÃO

A moagem do malte ocorre com a adição de água para posterior maceração visando favorecer a ação das enzimas hidrolíticas sobre a amilose, a amilopectina e a celulose formando maltose, glicose e outros glicídios simples, solúveis em água. Então, o resíduo das sementes germinadas é separado, e o mosto líquido é fervido visando parar a degradação enzimática. MAGALHÃES (2016)

A etapa da mosturação tem o objetivo de ativar as enzimas contidas no malte através do cozimento dos grãos em água quente para que possam converter o amido contido no malte em açúcares fermentáveis (maltose) e não-fermentáveis (dextrinas), constituindo assim o mosto cervejeiro. Cada grupo de enzimas (Figura 3) é favorecido conforme a temperatura e o pH da água – saber como usar cada uma dessas características é fundamental para atingir os objetivos buscados e obter a maior quantidade de mosto e da melhor qualidade possível.

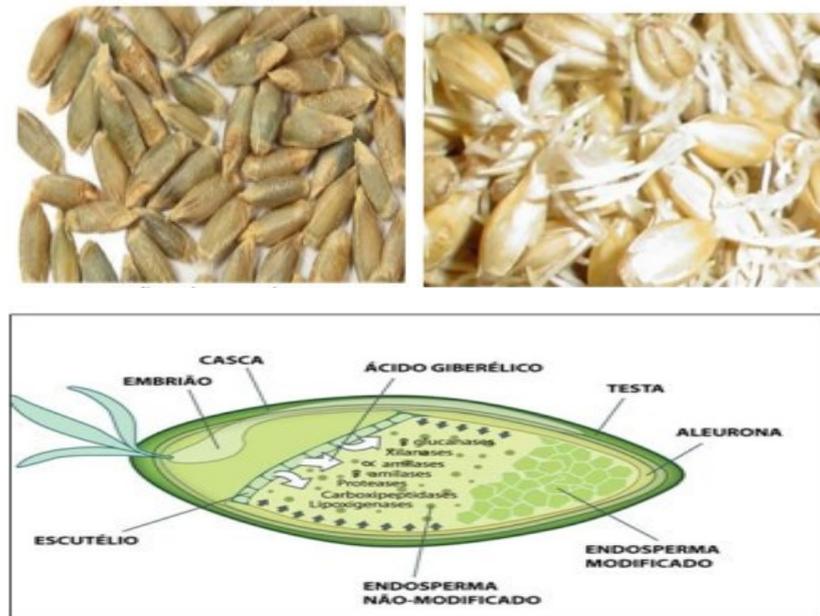
**Figura 3 - Principais enzimas do malte**

Enzimas	T ótima	pH ótimo	T inativação
$\alpha$ -amilase	72 - 75 °C	5.6 - 5.8	80 °C
$\beta$ -amilase	60 - 65 °C	5.4 - 5.5	70 °C
$\beta$ -glucanase	40 - 50 °C	4.5 - 5.0	60 °C
Proteases	45 - 55 °C	4.2 - 5.3	60 °C

Fonte: sistemas.eel.usp.br

A maior parte do extrato é obtido pela ação das enzimas do malte, que agem em suas temperaturas ótimas, que após a degradação de polissacarídeos (amiloze e amilopectina) em glicídios menores (maltose e glicose), ocorre à fermentação alcoólica. As sementes dos cereais são parcialmente germinadas e as enzimas que degradam os polissacarídeos são sintetizadas, isto é, produzidas, Figura 4. Esses dois processos são interrompidos com o aquecimento.

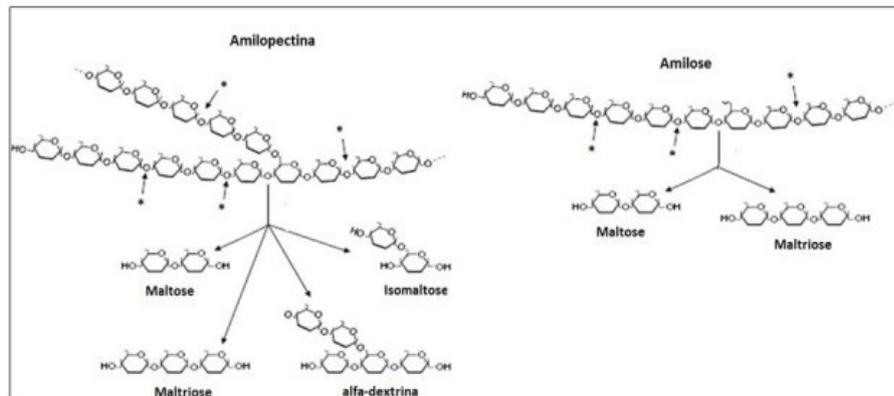
**Figura 4** - Grãos de Cevada e Malte, respectivamente



Fonte: celeiro produtos naturais, 2011

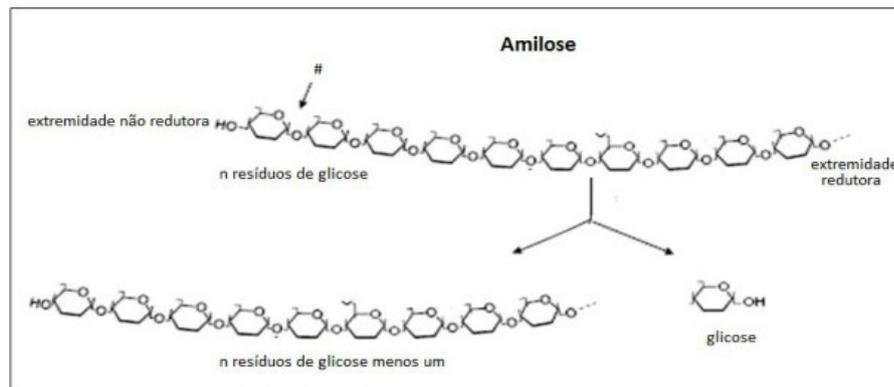
As principais enzimas que constituem o malte são:  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases, celulase e  $\alpha$ -glicosidase, que atuam como catalisadores, respectivamente, das reações de degradação do amido, da celulose e das ligações glicosídicas. O malte em água se torna propenso à ação das enzimas hidrolíticas na amiloze, amilopectina e celulose dos grãos, formando assim os glicídios simples e solúveis em água. Ao final desta etapa, o mosto é resfriado e aerado.

**Figura 5** - Ação da alfa-amilase (\*) sobre amilopectina: endoenzima que hidrolisa ligações  $\alpha$ -1,4 internas até 1 ou 2 resíduos de glicose antes de uma ligação  $\alpha$ -1,6. Ação da alfa-amilase (\*) sobre amilose: endoenzima que hidrolisa ligações  $\alpha$ -1,4 internas liberando de maltose e maltotriose.



Fonte: a bioquímica da fermentação (2017)

**Figura 6** - Ação da beta-amilase (#) sobre amilose: exoenzima que hidrolisa ligações  $\alpha$ -1,4 na extremidade não redutora liberando sequencialmente moléculas de glicose. O mesmo ocorre com a amilopectina até 2 resíduos de glicose antes de uma ligação  $\alpha$ -1,6, com a liberação de glicoses e alfa-dextrina.



Fonte: a bioquímica da fermentação (2017)

### 3.2. FILTRAÇÃO, FERVURA E RESFRIAMENTO

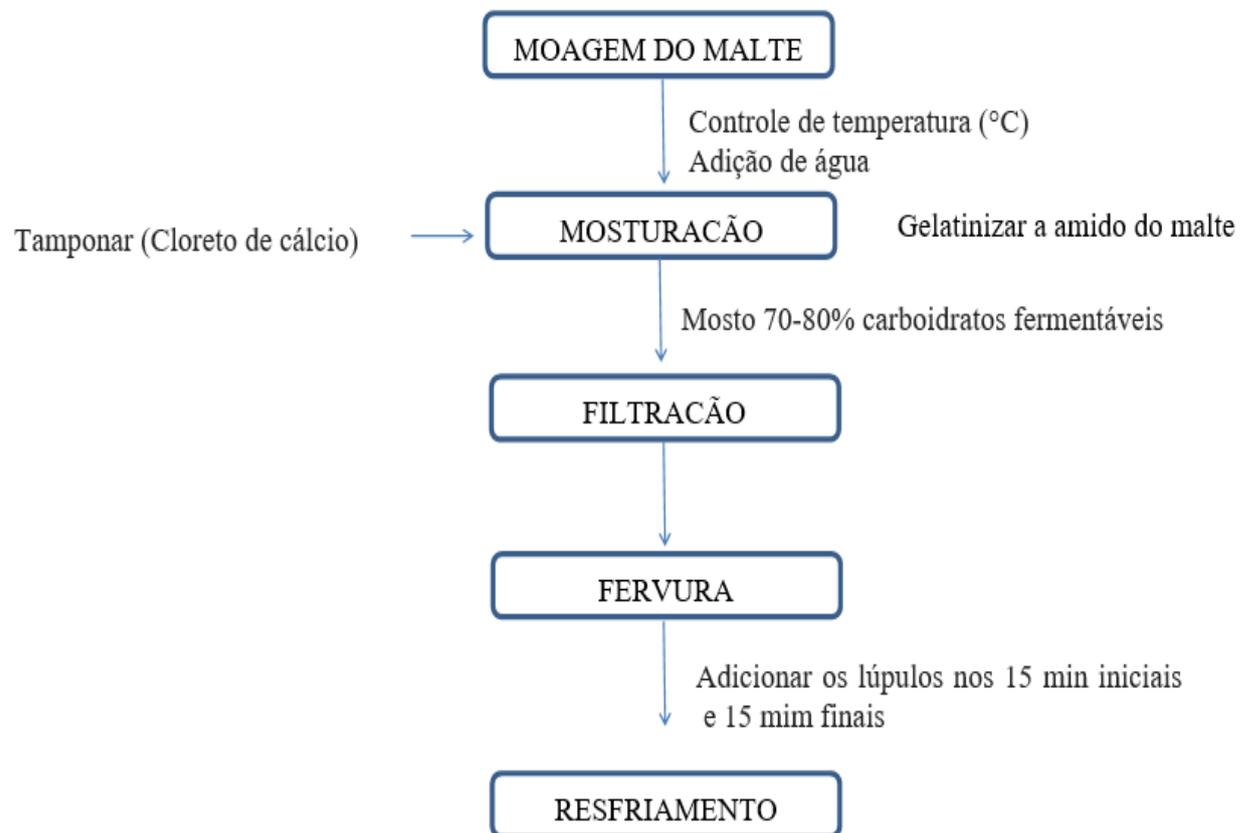
A filtração consiste na separação mecânica das partículas sólidas de uma suspensão líquida com o auxílio de um leito poroso. Quando se força a suspensão através do leito, o sólido da suspensão fica retido sobre o meio filtrante, formando um depósito que se denomina

torta e cuja espessura vai aumentando no decorrer da operação. O líquido que passa através do leito é chamado de filtrado.

O mosto filtrado é submetido à fervura (100°C), para conferir várias ações como inativar as enzimas, promover a coagulação proteica, a esterilização, a extração de compostos aromáticos e amargor do lúpulo que foi adicionado no começo da fervura, formar substâncias constituintes do sabor e aroma da cerveja, acerto da cor e evaporar tanto os componentes aromáticos indesejáveis como a água excedente do produto final. Quando se deseja obter uma cerveja mais aromática, adiciona-se lúpulo aromático no final da fervura, pois os óleos essenciais são voláteis e evaporam em altas temperaturas.

O mosto é então resfriado em trocador de calor de placas, até a temperatura de fermentação final, a qual vai depender do tipo de levedura utilizada, para cerveja *lager*, 7 a 15°C e para *ale*, 18 a 22°C (CEREDA, 1983, VENTURINI, 2005). Durante a aeração do mosto, o oxigênio é consumido pela levedura, em poucas horas, produzindo os ácidos carboxílicos insaturados e esteróis que são imprescindíveis para a síntese da membrana e o crescimento celular das leveduras (VENTURINI, 2005). A figura 7 abaixo descreve o fluxograma do processo produtivo do mosto.

**Figura 7** - Fluxograma do processo produtivo do mosto

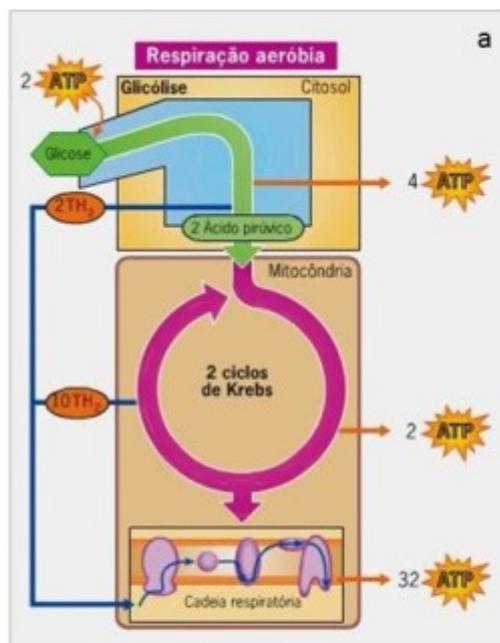


Fonte: Silva (2017)

### 3.3. FERMENTAÇÃO

Depois de resfriado e oxigenado, o mosto será fermentado pela adição das leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), as células crescem e se multiplicam rapidamente, devido à energia obtida do metabolismo aeróbico de glicídios simples (glicólise até piruvato e ciclo de Krebs), Figura 8. A fermentação pode ocorrer em tanques de variados tipos e deve ser feita em ambiente sem oxigênio, condição de anaerobiose. Quando o oxigênio, presente no tanque de fermentação e dissolvido no mosto, tiver sido todo consumido, as leveduras alteram o seu metabolismo para o anaeróbico, fermentando os glicídios simples em etanol e CO<sub>2</sub> (piruvato da via glicolítica é transformado em etanol e CO<sub>2</sub>). Energicamente é mais favorável à levedura respirar ao invés de fermentar, em condições naturais elas fermentam o menos possível, favorecendo a respiração (Efeito Pasteur) (Carvalho 2009).

**Figura 8** - Processo de obtenção de energia através da respiração aeróbica

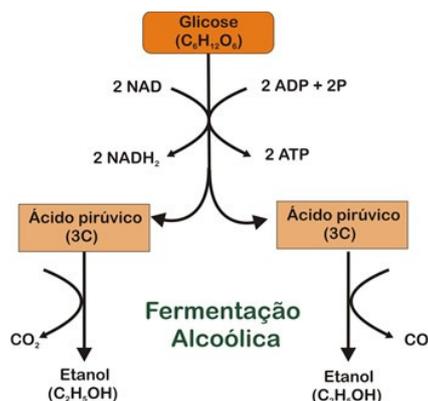


Fonte: a bioquímica da fermentação (2017)

Esta etapa tem início com a adição da levedura *S. cerevisiae Ale ou Lager*, dependendo do tipo de cerveja que será produzida. A fermentação alcoólica é a etapa mais lenta na produção de cerveja, onde as leveduras em suspensão fermentam o mosto, através de um mecanismo enzimático que catalisa as reações sobre os glicosídeos fermentáveis, por exemplo, a glicose, produzindo gás carbônico e etanol (BOFFILL, 2014).

No início da fermentação, sob condição de aerobiose, as leveduras oxidam as moléculas simples de açúcar e produzem água, energia e gás carbônico, quando o oxigênio é totalmente consumido, as leveduras utilizam a via fermentativa (BORTOLI, 2013). É por esta via que ocorre a transformação dos açúcares simples em etanol e gás carbônico (Figura 9).

**Figura 9** - Processo bioquímico da fermentação alcoólica (etapa anaeróbica)



Fonte: Biologia no laboratório, 2018

Os açúcares fermentescíveis são obtidos do amido, a partir das enzimas que são liberadas e ativadas do grão da cevada, na etapa de mosturação. A glicose e a frutose atravessam a membrana da célula de levedura por difusão facilitada, cessando o transporte quando as concentrações são iguais dentro e fora da célula. A maltose e a maltotriose são admitidas por um mecanismo de transporte ativo e as suas concentrações na célula podem fazer com que haja concentrações mais elevadas do que fora delas. A maltose, uma vez no interior da célula, é hidrolisada por uma  $\alpha$ -D-glicosidase. As leveduras são metabolizadas conjuntamente, embora a maltose seja mais rápida.

Esta etapa é regulada pela concentração de álcool formado, pelo pH do meio, pela quantidade de glicídio simples restante no mosto. Depois da interrupção da fermentação, as leveduras são removidas e a “cerveja bruta” passa para as caracterizações finais.

A levedura metaboliza os piruvatos dos glicídios simples, que são dos açúcares e carboidratos do malte, produzindo etanol e gás carbônico como produtos provenientes assim como o ésteres (acetato de etila, acetato de isoamila, acetato de n-propila), ácidos (acético, propiônico) e álcoois superiores (1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol), como produtos secundários. Estes transmitem propriedades organolépticas à cerveja (ALMEIDA, 2008). Por isso, a fermentação é a fase mais importante para definir o paladar da cerveja. O tempo da fermentação deve ser controlado de acordo com o teor alcoólico desejado.

### 3.3.1 METABÓLITOS INDICATIVOS DA VIABILIDADE E CONCENTRAÇÃO CELULAR

O estado fisiológico e o desempenho fermentativo das leveduras não permanecem constantes durante os vários ciclos de fermentação. Alguns metabólitos produzidos por *S.*

*cerevisiae* tais como o glicerol e a trealose servem como indicadores de estresse da levedura. Os níveis destes compostos podem ser um indicador da tolerância a situações de estresse provocado por fatores adversos (SALVATO, 2010).

O glicerol é o único poliol produzido pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* e sua síntese relaciona-se inversamente com a eficiência fermentativa. É o mais efetivo osmorregulador presente em *S. cerevisiae* e ocorre aumento de sua síntese em situações de estresse osmótico, pois sua formação é aumentada em meios com baixa atividade de água.

Altos níveis de glicerol confere capacidade de resistência ao estresse osmótico nas leveduras. A produção de glicerol durante a fermentação alcoólica sofre influência das linhagens presentes no processo, pH, temperatura e concentração de sacarose no mosto, e de modo geral, quanto maiores os valores destes parâmetros, maior a produção de glicerol (GUTIERREZ, 1991). Erasmus et al. (2003), atribuem a síntese de glicerol, trealose e glicogênio como válvula de segurança, que disponibiliza rapidamente carboidrato à levedura.

Quando se tem acúmulo de glicerol no caldo fermentado, ocorre um decréscimo lento e linear da produtividade específica máxima de etanol, relacionado ao acréscimo de glicerol, seguido por uma queda rápida da produtividade a partir de um limiar de concentração.

A produção de glicerol sob condições fermentativas pode ser eliminada pela presença de baixas concentrações de oxigênio (condições micro aeróbias). Estudos de modelagem matemática indicam que neste caso a oxidação do excesso de NADH ocorre via cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria.

A síntese de trealose é o mais eficiente sacarídeo na estabilização da membrana plasmática quando a levedura é submetida a um estresse osmótico reduzindo assim possíveis danos em sua estrutura. Além de um carboidrato de reserva, a trealose exerce a função de proteção das células quando em condições de estresse. Este composto pode proteger as proteínas e membranas da inativação ou desnaturação causada por uma variedade de condições estressantes (ELBEIN et al., 2003).

A trealose possui a capacidade de proteger a célula de levedura durante processos de desidratação-hidratação. Tal habilidade é atribuída ao fato de que a trealose interage com os grupos polares das cadeias fosfolipídicas existentes na membrana celular (CROWE et al., 1984). Neste fenômeno ocorre à substituição de moléculas de água pela trealose, assim em condições de estresse, são evitadas as separações laterais de componentes de membrana, mantendo-se a integridade e fluidez da mesma e, com isso a viabilidade celular (PANEK et al., 1993). Portanto, há uma forte relação entre o acúmulo de trealose intracelular e a viabilidade celular em condições de estresse. Indicando que este açúcar protege a célula de

diversos estresses como o congelamento, concentrações tóxicas de etanol, o choque térmico e desidratação. Este carboidrato é importante para a manutenção da viabilidade celular da levedura, porém é utilizada como carboidrato de reserva durante períodos de não proliferação.

### 3.4. MATURAÇÃO E CLARIFICAÇÃO

O processo de maturação, também denominado de fermentação secundária, no qual a cerveja é armazenada ou permanece em tanques em baixas temperaturas, possibilita o desenvolvimento das características sensoriais finais ao produto.

O aroma e sabor da bebida são melhorados através da redução das concentrações de acetaldeído, ácido sulfúrico e diacetil formados na fermentação primária. Durante o período de maturação, são formados também ésteres que dão origem ao sabor e aroma característicos da cerveja; entre os ésteres, predominam o acetato de isoamila, acetato de etila, caprilato de etila e caproato de etila. Depois se inicia a etapa de clarificação mediante a remoção do material amorfo, células de leveduras e componentes que causam turbidez a frio na bebida (CARVALHO, 2007).

Após a maturação, a cerveja passa por um processo de filtração, para a remoção de células de leveduras, substâncias coloidais que causam turbidez na cerveja. A filtração não altera o sabor e a composição da cerveja, mas é imprescindível para a sua apresentação, conferindo-lhe um aspecto transparente e brilhante. Depois de filtrada a cerveja está pronta para ser envasada que é a fase final do processo de produção da cerveja (ALMEIRA; SILVA, 2005).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE COCO

A caracterização físico química do óleo de coco comercial da marca COPRA foi realizada no Senai de Feira de Santana.

Todas as análises foram quantitativas, sendo a maioria realizada por titulação como acidez e índice de saponificação.

#### 4.2. DESIGN EXPERIMENTAL

O Planejamento Estatístico utilizado foi o Delineamento Composto Central Rotacional -  $2^2$  (DCCR) apresentado abaixo (Tabela 3).

**Tabela 3** - Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) -  $2^2$  com os níveis reais e codificados, respectivamente, utilizada na suplementação do mosto.

Ensaio	Variáveis independentes			
	Níveis reais		Níveis codificados	
	Concentração do Mosto (°P)	Teor de Óleo de Coco (µL)	Concentração do Mosto (°P)	Teor de Óleo de Coco (µL)
1	17	0,5	-1	-1
2	22	0,5	+1	-1
3	17	220	-1	+1
4	22	220	+1	+1
5	19,5	110	0	0
6	19,5	110	0	0
7	19,5	110	0	0
8	19,5	110	0	0
9	15,96	110	-1,41421	0
10	23,04	110	+1,41421	0
11	19,5	0,045	0	-1,41421
12	19,5	265	0	+1,41421

Os parâmetros do DCCR foram estabelecidos através de trabalhos que utilizaram azeite e óleo de dendê, em substituição à aeração do mosto por suplementação. Os experimentos foram realizados por ordem de sorteio garantindo assim a aleatoriedade das análises.

#### 4.3. PREPARO DO MOSTO

O preparo do mosto base, para a realização dos experimentos foi realizado no Laboratório de Fermentação da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). A formulação contemplou as seguintes matérias primas e demais ingredientes: malte, água mineral, lúpulos e cloreto de cálcio.

O malte utilizado para o preparo do mosto (Figura 10) foi o Chatean Pilsen 2 RS Belga. A formulação preparada foi para 50 litros de cerveja concentração padrão *Lager*,

partindo de um mosto de 12 graus platô (°P). Além do malte outros ingredientes fizeram parte do preparo do mosto como a água primária, cujo pH foi ajustado para 5,4 à temperatura de 35°C na presença do malte. Um volume menor de água mineral, sendo esta ajustada à temperatura de 75°C pois entrou no processo quando a temperatura do preparado já estava mais elevada. O Cloreto de Cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) utilizado na mosturação para tamponação e os lúpulos das marcas Nugget 30% A. Alfa e Hersbrueker Pellet T-90 4,4% A. Alfa, que conferiu amargor e aroma respectivamente.

O malte de Cerveja *Lager* (8,8 Kg), foi pesado e triturado em moinho de cereais (Figuras 11 e 12), sendo controlado o tamanho do grão triturado, pois isto influencia durante a fervura e obtenção da quantidade de açúcares final, além disso, o tamanho da casca ajuda na filtração se a mesma não for demasiadamente diminuída durante este processo. Após a trituração, o malte é adicionado á panela de mosturação, que já continha 43,8 litros de água mineral de pH 5,4, devidamente ajustado. A fervura tem inicio e logo é adicionado 11,1 g de Cloreto de Cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) que tem diversas funções: de acidificar o mosto, precipitando os fosfatos, e com isso aumenta a atividade enzimática, ajuda na lavagem diminuindo a viscosidade, reduz a extração de taninos, reduz a extração e isomerização de alfa-ácidos. Também melhora a clarificação precipitando proteínas e aumentando a floculação e sedimentação do fermento.

**Figura 10** - Malte para cerveja *Lager* utilizado no preparo do mosto



Fonte: Silva (2017)

**Figura 11**- Pesagem do Malte



Fonte: Silva (2017)

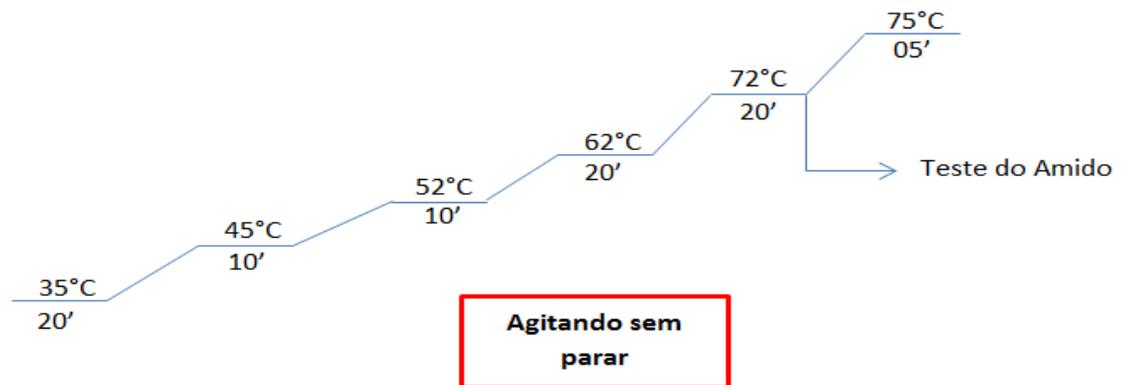
**Figura 12 - Trituração do Malte**



Fonte: Silva (2017)

A etapa de mosturação prossegue seguindo uma rampa de tempo e temperatura conforme Figura 13 abaixo. Esta rampa contempla as etapas em que favorece a hidrólise do amido pela ação das enzimas. O processo ocorre em constante agitação pois ajuda na hidrólise dos açúcares e evita a queima do mosto, Figura 14. No ponto equivalente a temperatura de 72°C é realizado o teste do amido (Figura 15) para verificação da conversão completa do amido, cor marrom para açúcares fermentescíveis, coloração incolor. Coletou-se um pouco de mosto e adicionou duas gotas de Iodo a 2%, houve a completa ausência da coloração azulada evidenciando a completa hidrólise do amido.

**Figura 13 - Rampa de tempo e temperatura durante o preparo do mosto**



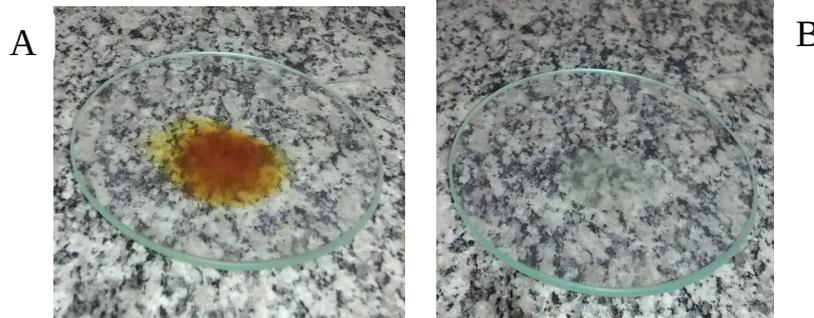
Fonte: Silva (2017)

**Figura 14** - Preparo do mosto



Fonte: Silva (2017)

**Figura 15** - Teste do Amido indicando presença de amido (A) e ausência de amido (B)



Fonte: Silva (2017)

O preparo do mosto finaliza ao atingir a temperatura de 75°C e permanência de cinco minutos nesta mesma temperatura com o intuito de inativar as enzimas hidrolíticas.

A filtração foi realizada em outra panela grande, com um fundo falso para favorecer a filtração, Figura 16. A casca neste momento tem a função de camada filtrante, pois fica retida no fundo falso ajudando a filtragem. A casca retida foi lavada com 20,8 litros de água mineral secundária a 75°C para completa extração dos açúcares.

O mosto devidamente filtrado retorna para a panela de fervura e permanece fervendo por 1 hora à temperatura de 100°C. Neste tempo o mosto concentra e adiciona-se os lúpulos.

Após 15 minutos da fervura adicionou-se 8,29g do lúpulo Extrator de Amargor e nos 15 minutos finais da fervura adicionou-se 46,07g de lúpulos Pellets de Aroma, Figura 17. Decorrido o tempo de 1 hora o mosto foi resfriado e deixado em repouso para a sedimentação do que a indústria chama de *trub*. Após o repouso o mosto foi envasado em garrafas pets anteriormente higienizados e secas, Figura 18. As garrafas foram acondicionadas em refrigerador para posterior correção do Grau Platô com a maltose em pó os quais os experimentos foram realizados (17°P, 19,5,°P e 22°P).

**Figura 16** - Filtração do Mosto em panela de fundo falso



Fonte: Silva (2017)

**Figura 17** - Lúpulos de amargor (A) e amora (B)



Fonte: Silva (2017)

**Figura 18** - Mosto pronto e engarrafado para armazenamento



Fonte: Silva (2017)

#### 4.4. FERMENTAÇÃO

A cepa de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) utilizada neste estudo foi *Californian Lager M 54*, obtida comercialmente através da empresa Bahia Malte. O método de propagação da levedura foi obtido, a partir da inoculação de 5 ml de levedura padronizada em Solução Salina (0,85%) em 45 mL de mosto de alta densidade em frasco Erlenmeyer de 250 mL, cultivados em estufas de Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O. D), a 15°C durante 24 h. Após este período foi realizada a contagem de células em câmara de Neubauer (1/400 mm<sup>2</sup> x 1/10 mm), para assegurar que as células atingissem a concentração mínima de 10<sup>5</sup>cel/mL.

Posteriormente, a padronização do inócuo foi realizada a partir de 50 mL das células em frasco Erlenmeyer de 500 mL contendo o mosto com alta densidade nas seguintes concentrações (15,96°P, 17,0°P, 19,5°P, 22°P e 23,04°P), e a suplementação nutricional foi feita com óleo de coco (marca COPRA), nas concentrações (0,045µL, 0,5 µL, 110 µL, 220µL e 265µL), Figura 19. Foi adicionado também 0,06g de SO<sub>2</sub> em 300ml de mosto na forma de metabissulfito de potássio, um sal cristalino, para evitar contaminação. Os frascos Erlenmeyers foram fechados com algodão e a fermentação foi conduzida em estufa B.O.D na temperatura de 15°C. Após 12 h de fermentação, as tampas de algodão foram substituídas por válvulas airlok contendo álcool para evitar contaminação externa e entrada de ar na fermentação, Figura 19. A cada 12 h foram retiradas amostras para o acompanhamento analítico da fermentação, sendo feita as análises do teor de etanol (%v/v), densidade (g/mL), sólidos solúveis (<sup>0</sup>Brix), extrato aparente (<sup>0</sup>P), pH e contagem de células em câmara de Neubauer (1/400 mm<sup>2</sup> x 1/10 mm). O período de fermentação foi de 180 h, definido através da estabilidade dos valores de extrato aparente. A conversão de unidades do etanol (%v/v) para (g/L) e das concentrações de extrato aparente (<sup>0</sup>P) para (g/L), foram realizadas de acordo com Carvalho (2009).

**Figura 19** - Sistema experimental de fermentação e o Óleo de Coco comercial utilizado



Fonte: Silva (2017)

Para avaliar se os fatores estudados foram significativos ou não, realizou-se o cálculo do erro experimental, baseado nas repetições dos experimentos pelo método DCCR. Para um planejamento fatorial fracionário sem repetição, não é possível efetuar tais cálculos, devido à carência de graus de liberdade. Pode-se estimar esse erro considerando as interações maiores que as de segunda ordem, cujos efeitos geralmente não são significativos ou seus valores são muito próximos do erro experimental (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS,1995; BOX et al., 1978).

Posteriormente os dados foram processados estatisticamente pelo programa STATISTICA Versão 10, a fim de se verificar a influência dos fatores estudados na suplementação do mosto cervejeiro com óleo de coco e determinar as condições otimizadas que permitam a elaboração de cerveja.

A Produtividade Volumétrica em Etanol ( $Q_p$ ) e Etanol (RRE), como resposta do processo frente à análise estatística.

#### 4.5. MÉTODOS ANALÍTICOS

##### 4.5.1. ANÁLISES DO ÓLEO DE COCO

As análises físico-químicas do óleo de coco foram realizadas no Senai de Feira de Santana. A análise Aspecto foi realizada visualmente na embalagem de vidro original do produto. A Determinação da acidez fornece dados importantes sobre a conservação do óleo, o método utilizado para essa determinação foi a de acidez titulável.

$$\frac{V \times f \times 100}{P \times c} = \text{acidez em solução molar por cento v/m}$$

O Índice de saponificação determina a quantidade de álcalis necessária para saponificar uma quantidade definida de amostra.

$$\frac{28,05 \times f \times (B - A)}{P} = \text{índice de saponificação}$$

A densidade foi realizada pelo método de secagem direta em estufa a 105°C.

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{umidade ou substâncias voláteis a } 105^{\circ}\text{C por cento m/m}$$

#### 4.5.2. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS (°Brix)

A medida dos sólidos solúveis totais (°P) de uma amostra confere um conjunto de todas as substâncias orgânicas e inorgânicas ali contidas. Para a determinação destes sólidos totais as amostras foram analisadas por leitura no refratômetro de Abbe, modelo 2WAJ, de acordo com a metodologia definida pela AOAC - Association of Official Analytical Chemists (2000), antes e durante a fermentação do mosto.

#### 4.5.3. DETERMINAÇÃO DO pH

O Potencial Hidrogênionico (pH) é uma escala logarítmica que mede o grau de acidez, neutralidade ou alcalinidade de uma determinada solução. As amostras foram determinadas por leitura em pHmetro Microprocessador de Bancada da marca Quimis, modelo Q400MT, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz, 2008, ed. digital.

#### 4.5.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ETANOL, DENSIDADE E EXTRATO APARENTE

O teor de etanol (%v/v) é a medida de álcool que contém na substância, densidade (g/mL) é a medida da massa seca, sem umidade de uma substância e extrato aparente (°P) é um parâmetro analítico muito utilizado pelos cervejeiros na produção de cervejas, todos foram determinados através do densímetro de bancada (Rudolph Research Analytical, modelo DDM 2911).

#### 4.5.5. DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR

A viabilidade celular é a contagem de células representada pela relação entre células vivas e totais de células que contém na amostra. Esta viabilidade foi avaliada durante a fermentação com a câmara de contagem de *Neubauer* (1/400 mm<sup>2</sup> x 1/10 mm), de 12 em 12 horas, utilizando o corante azul de metileno. A leitura foi em microscópio óptico da marca OPTON e modelo TIM-2008.

Os resultados foram expressos em porcentagem, através da formula abaixo:

$$\text{Viabilidade celular (\% células vivas)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ células vivas (CV)} \times 100}{\text{n}^\circ \text{ de células contadas}}$$

Sendo assim uma das amostras foi utilizada para a contagem de células, a outra foi centrifugada em centrífuga de Eppendorf (13000 rpm por 10 minutos) e o líquido sobrenadante foi utilizado para a realização das análise de etanol, extrato aparente, densidade, teor de sólidos solúveis (°Brix) e pH.

#### 4.5.6. DETERMINAÇÃO DA PRODUTIVIDADE VOLUMÉTRICA EM ETANOL

Produtividade Volumétrica em etanol (g/L.h):

$$Q_p = \frac{\Delta P (P - P_i)}{\Delta t (t - t_i)}$$

Onde:

Pi e P: Concentração inicial e Concentração final (g/L)

ti e t : Tempo inicial e tempo t de fermentação (h)

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE COCO

O óleo de coco extra virgem utilizado no projeto foi da marca COPRA, as análises de caracterização foram realizadas no Laboratório Físico Químico do Senai -FSA e os resultados comparados com os descritos no rótulo do produto, na RDC de óleos vegetais e com autores que realizaram as mesmas análises em seus estudos, conforme Tabela 4 abaixo.

**Tabela 4** - Parâmetros físico-químicos da amostra de óleo de coco com diversas referências

PROPRIEDADES	REFERÊNCIAS
--------------	-------------

<b>Aspecto</b>	<b>Acidez</b> (extra virgem) (mg KOH/g)	<b>Índice de Saponificação</b> (mg KOH/g)	<b>Densidade</b> (20°C mg.m <sup>-3</sup> )	<b>Padrão/Análise do Óleo de Coco</b>
Límpido, sem impurezas	0,37	83,03	0,872	Dados do presente trabalho
Límpido, sem impurezas	< 0,3	248 - 255	0,903 – 0,924	RDC n° 270/05
Límpido, sem impurezas	> 0,3	222	0,897	Rótulo
Límpido, sem impurezas	0,56	222	0,897	Martins e Santos (2015)
Límpido, sem impurezas	0,47	265,9	0,916	Albuquerque (2017)

Fonte: rótulo do óleo de coco COPRA e análises realizadas conforme Instituto Adolfo Lutz, 1ª ed. digital 2008

Os parâmetros analisados acima tiveram alguns valores aproximados e outros bem divergentes, mas temos que levar em consideração as metodologias utilizadas e as condições de armazenamento nas quais a amostra se encontrava. O aspecto visual de todas as amostras tivera os mesmos resultados, límpidos e sem impurezas, confirmando serem amostras industrializadas. Segundo Martins e Santos (2015), o índice de acidez revela o estado de conservação do óleo, expresso como número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos livres de um grama da amostra. O índice de acidez elevado indica, portanto, que o óleo está sofrendo quebras em sua cadeia, liberando seus constituintes principais, os ácidos graxos livres, com isso pode-se determinar se o óleo sofreu rancificação hidrolítica ou oxidativa que foi o que ocorreu com os resultados das amostras de Martins e Santos (2015) e Albuquerque (2017) que estão fora da especificação.

Tomando por base a resolução n° 270/2005 da ANVISA os índices de saponificação da maioria das análises estão abaixo do esperado. Esses resultados demonstram a elevada proporção de ácidos graxos de baixo peso molecular, mas comprovam a semelhança entre diferentes óleos de coco analisados em relação à composição de ácidos graxos. O índice de saponificação é uma indicação da quantidade relativa de ácidos graxos de alto e baixo peso molecular e não serve para identificar o óleo, pois muitos óleos possuem estes índices muito semelhantes.

As densidades das amostras são equivalentes em seus valores, porém alguns obtiveram valores abaixo da RDC, no entanto isso não influencia na qualidade do óleo pesquisado, podendo ter ocorrido essa variação pela influência da temperatura da amostra no momento da análise.

## 5.2 EFEITOS DO TEOR DO ÓLEO DE COCO E DA CONCENTRAÇÃO DO MOSTO NA PRODUÇÃO DA CERVEJA POR *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Os ensaios analíticos foram realizados segundo o DCCR, num mesmo instante de tempo ( $t=180h$ ), correspondente ao tempo final de fermentação do experimento com menor número de horas, visando evitar a influência do fator tempo de fermentação nas respostas analisadas.

A concentração do mosto foi ajustada com solução supersaturada de Maltose até atingir as concentrações de 15,96; 17; 19,5; 22 e 23,04°P. Essa unidade graus Platô é usada para medir a quantidade de açúcares, dextrinas, proteínas e outras substâncias no mosto, ou, até mesmo, da cerveja, após a fermentação. As distintas concentrações do mosto foram relacionadas com os cinco teores de óleo de coco planejados para análise da suplementação, conforme Tabela 5.

Neste estudo, utilizou-se um planejamento fatorial composto  $2^2$  com 4 ensaios de repetição no ponto central (Tabela 5), a fim de diminuir a carência dos graus de liberdade para a realização do cálculo do erro experimental, permitindo avaliar se os fatores estudados foram significativos ou não. Em sequência foram realizados mais 4 ensaios em estrela rotacional, ou seja, o planejamento foi ampliado, acrescentando um planejamento idêntico ao já existente, porém, girado de 45 graus em relação à orientação de partida.

O resultado é uma distribuição octogonal. Este argumento geométrico leva à conclusão que os novos pontos estão a uma distância de  $2^{0,5}$  do ponto central (em variáveis codificadas) e, portanto são localizados de acordo com as coordenadas mostradas nas quatro últimas linhas da Tabela 5.

**Tabela 5-** Valores de produtividade volumétrica em etanol, concentração de etanol, células totais e viabilidade celular nos ensaios do planejamento do fatorial completo  $2^2$  com quatro ensaios de ponto central e mais quatro ensaios em estrela rotacional.

Ensaio	Variáveis independentes			Variável dependente			
	Níveis codificados		$\Delta S$ (%)	Células (cél/mL)	Viabilidade Celular (% cél. vivas)	Etanol (% v/v)	Qp (g/L.h)
	Concentração do Mosto (°P)	Teor de Óleo de Coco ( $\mu$ L)					
1	-1	-1	56,30	9,85E+05	87,69	5,503	0,241
2	+1	-1	61,33	3,71E+06	91,48	6,920	0,303
3	-1	+1	58,76	9,37E+05	72,73	6,787	0,297
4	+1	+1	50,54	1,06E+06	89,53	5,110	0,224
5	0	0	63,15	2,51E+06	89,78	8,237	0,362
6	0	0	51,29	1,25E+06	90,02	8,236	0,361
7	0	0	71,60	6,36E+05	82,39	8,237	0,361
8	0	0	70,52	4,72E+06	91,83	8,236	0,362
9	-1,41421	0	61,74	7,71E+05	71,94	5,786	0,254
10	+1,41421	0	60,77	7,88E+05	69,62	6,266	0,275
11	0	-1,41421	71,27	8,74E+05	76,01	6,233	0,273
12	0	+1,41421	51,16	9,83E+05	69,67	6,148	0,269

O consumo de substrato ( $\Delta S$ ) teve variação de 21,06% nos experimentos, com consumo mínimo de 50,54% e máximo de 71,60%. As células (cél/mL) também tiveram crescimento alcançando  $4,72 \times 10^6$ , com viabilidade celular máxima foi de 91,83%. Foram encontrados valores de etanol variaram de 5,110 a 8,237 %v/v, sendo a concentração do mosto em °P variando um pouco mais de 15 a 23 e a concentração do óleo de coco aumentando de 0,04 a 265  $\mu$ L. Além disso, nas mesmas condições os valores encontrados de Qp foram entre 0,224 e 0,362 g/L.h.

A viabilidade das culturas de levedura afeta diretamente o desempenho da fermentação e qualidade final da cerveja. As mudanças fisiológicas que ocorrem nas células de levedura durante as condições de estresse respondem às flutuações na concentração de oxigênio dissolvido, pH, osmolaridade, concentração de etanol, suprimento de nutrientes e temperatura (Gibson,2005). A primeira fase do crescimento das células é a Lag (adaptação), onde provê o grau de atenuação e a produtividade durante a fermentação, pois elas visam garantir a sobrevivência das leveduras.

A utilização de óleos e azeite nas pesquisas de suplementação e substituição da aeração nos mostos cervejeiros tem sido recorrente e válida, pois são produtos natural e abundante em nosso país além de possuir em suas composições alto teores de ácidos graxos que são encontrados na estrutura da membrana celular das leveduras.

A pesquisa de Magalhães (2016), utilizando óleo de dendê na suplementação do mosto cervejeiro também foi desenvolvida e analisada a partir do DCCR. Com isso pude comparar alguns parâmetros equivalentes entre nossas pesquisas na análise estatística e modelagem matemática, discutidas no próximo tópico.

Hull (2005) e Wild (2016) utilizaram em suas pesquisas o azeite de oliva visando estabelecer parâmetros para substituição da aeração do mosto, fase aeróbica do processo de fermentação, com técnicas de adição de ácidos graxos.

### 5.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E MODELAGEM MATEMÁTICA EMPÍRICA PARA PRODUTIVIDADE VOLUMÉTICA EM ETANOL (QP)

As estimativas dos efeitos, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância para Qp encontram-se na Tabela 6, abaixo, onde se pode verificar que o termo quadrático de ambos os fatores, tanto  $[Fto]^2$  como  $[Fcm]^2$  além do  $[Fcm]$ , foram significativos a 95 %, enquanto que o efeito principal (ou linear) do Fator Teor Óleo de Coco  $[Fto]$ , assim como a interação deste efeito com o efeito linear concentração do mosto ( $[Fcm]. [Fto]$ ) não apresentaram significância estatística ao nível de 95 % de confiança.

O efeito principal do fator Qp também apresentou significância estatística ( $p < 0,05$ ), deste modo, quando se passou do nível  $-1,41421$  (15,96 °P) para o nível  $+1,41421$  (23,04°P) a Qp aumentou em média 0,021 unidades de Qp (g/L.h).

Segundo Magalhães (2016), seu estudo também apresentou acréscimo significativo nesta fase quando passou do nível  $-1,41421$  (14,76 °P) para o nível  $+1,41421$  (23,24°P) a Qp aumentou em média 0,07 unidades de Qp (g/L.h), sendo que os teores de óleo de dendê e de coco utilizados e a concentração do mosto em °P foram similares, porém existem fatores intrínsecos a composição destes óleos que o diferenciam, e a faixa entre os níveis avaliados acima tem diferença de 1,4 °P.

**Tabela 6** - Estimativa dos efeitos, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância para a (Qp) seguindo um planejamento fatorial  $2^2$  com quatro ensaios de ponto central e mais quatro ensaios em estrela rotacional.

Fatores de interações	Estimativas	Erros-padrão	t	p
Média	0,352500	± 0,009927	35,50876	0,000000*
[Fto]	-0,007164	± 0,014039	-0,51031	0,628062
[Fto] <sup>2</sup>	-0,082250	± 0,015696	-5,24013	0,001938*
[Fcm]	0,041175	± 0,014039	2,93286	0,026190*
[Fcm] <sup>2</sup>	-0,088750	± 0,015696	-5,65425	0,001314*
[Fto] . [Fcm]	0,005500	± 0,019854	0,27702	0,791062

R<sup>2</sup> = 90,698%; R<sup>2</sup>Adj = 82,945% Residual=0,0003942.\*Significativo ao nível de 95 % de confiança.

Onde:

Fto: fator linear do teor de óleo de coco

[Fto]<sup>2</sup>: fator quadrático do teor de óleo de coco

Fcm: fator linear da concentração do mosto

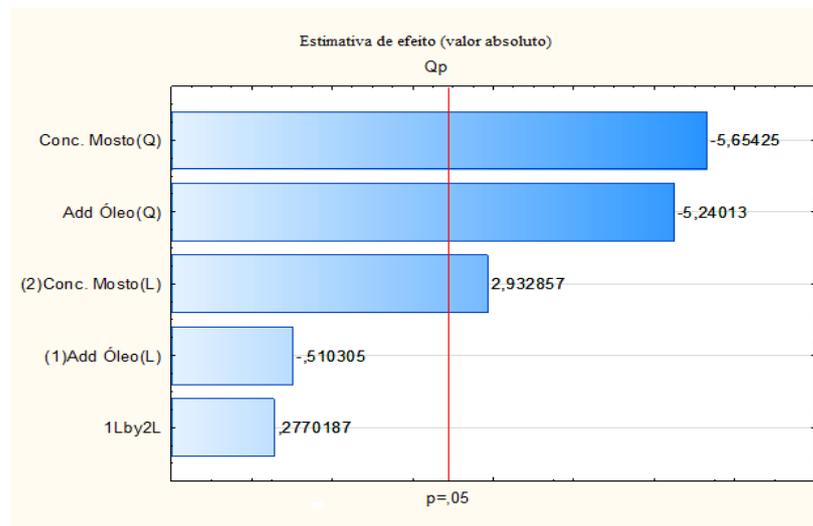
[Fcm]<sup>2</sup>: fator quadrático da concentração do mosto

Verifica-se na Tabela 6 que o termo referente ao fator adição de óleo de coco quadrática, os fatores linear e quadrático da concentração do mosto são significativos a 95 % de confiança, pois os valores P foram menores que 0,05, eles devem ser mantidos no modelo matemático empírico por uma questão de hierarquia do modelo (Figura 20).

Almeida e Silva (2005) relata que ao aumentar a concentração inicial do mosto, ocorrem efeitos na fermentação, tais como alta pressão osmótica e níveis elevados de etanol, resultando na perda de viabilidade celular da levedura e em fermentações mais lentas. O autor manifesta que as células de levedura *S. cerevisiae* usadas na preparação de cerveja tipo *Lager* quando na presença de elevadas concentrações de etanol, na fermentação de mosto como 25°P podem manifestar uma diminuição da viabilidade celular e do crescimento.

Conforme Madigan et al. (2010) todas as células necessitam de fonte de carbono para sua nutrição. Após o carbono, o elemento mais abundante nas células é o nitrogênio.

**Figura 20** - Gráfico de Pareto que representa a estimativa de efeito de Qp á 5% da probabilidade de significância em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco.



**Tabela 7** - Análise de variância da regressão do modelo que representa a Qp.

Fatores de interação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Valor de F	Valor de P
[Fto]	0,000103	1	0,000103	0,26041	0,628062
[Fto] <sup>2</sup>	0,010824	1	0,010824	27,45899	0,001938*
[Fcm]	0,003391	1	0,003391	8,60165	0,026190*
[Fcm] <sup>2</sup>	0,012603	1	0,012603	31,97050	0,001314*
Erro Puro	0,002365	6	0,000394		
Total	0,025425	11			

R<sup>2</sup> = 90,698% e R<sup>2</sup> ajustado = 82,945%; Erro puro na média quadrática = 0,0003942;

\*Significativo ao nível de 5 % da probabilidade.

Ao se observar o valor de P na tabela ANOVA para a significância do modelo (Tabela 7), nota-se que ele é maior que 0,01 e menor que 0,05, demonstrando a existência de uma relação estatística entre as variáveis ao nível de 95 % de confiança. O valor de R<sup>2</sup> indica que o modelo matemático permite explicar 90,698 % da variabilidade nos resultados experimentais na Qp em função das mudanças nos valores da adição do óleo de coco e concentração do mosto. O percentual não explicado está relacionado com o erro puro dos experimentos, ou seja, é devido a erros de metodologia da própria análise. Assim, pode-se concluir que o nível de significância ( $p < 0,05$ ) e o elevado coeficiente de determinação ( $R^2 = 90,698\%$ ) obtidos da análise de variância indicam que o modelo matemático quadrático pesquisado é adequado e ajusta os dados experimentais. Ainda na Tabela 7, observa-se o valor de R<sup>2</sup> ajustado (82,945 %), que é o mais apropriado para comparar modelos matemáticos com diferentes números de variáveis independentes.

Em contrapartida o trabalho de Magalhães (2016) com o óleo de dendê obteve o  $R^2$  de mais de 92% e o  $R^2$  ajustado de 89,359 %. Valores explicados pelo ao alto teor de ácidos graxos insaturados na composição do dendê.

**Tabela 8** - Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância do planejamento fatorial  $2^2$  com mais quatro ensaios de ponto central e quatro ensaios em estrela rotacional (DCCR) para o modelo que representa a  $Q_p$ .

Variáveis independentes	Parâmetros	Coeficientes	Erros-padrão	t	P
Constante	Constante	0,352500	± 0,009927	35,50876	0,000000*
[Fto]	$X_1$	-0,003582	±0,007020	-0,51031	0,628062
[Fto] <sup>2</sup>	$X_1^2$	-0,041125	±0,007848	-5,24013	0,001938*
[Fcm]	$X_2$	0,020587	±0,007020	2,93286	0,026190*
[Fcm] <sup>2</sup>	$X_2^2$	-0,044375	±0,007848	-5,65425	0,001314*
[Fto] . [Fcm]	$X_1, X_2$	0,002750	±0,009927	0,27702	0,791062

$R^2 = 90,698\%$  e  $R^2$  ajustado = 82,945%; \*Significativo ao nível de 95 % de confiança.

Com base nos dados obtidos na Tabela 8, a equação do modelo matemático quadrático proposta para descrever a  $Q_p$  com os valores significativos foi:

$$Y_1 = 0,352500 - 0,041175. X_1^2 + 0,020587. X_2 - 0,044375. X_2^2$$

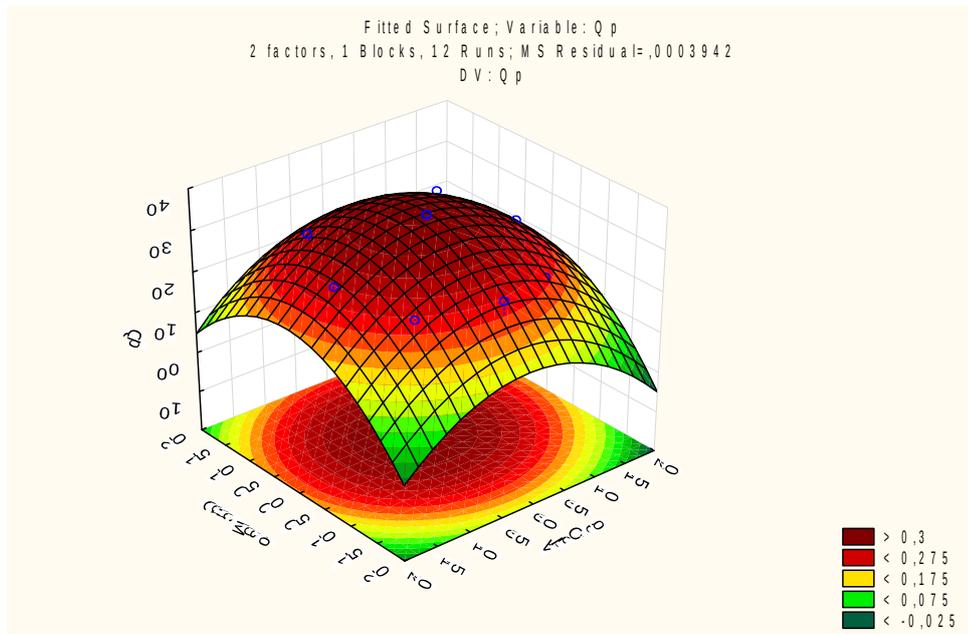
Onde:

$Y_1$  é a Produtividade Volumétrica em Etanol (g/L.h),

$X_1, X_2$  são os fatores codificados: teor de óleo de coco e concentração do mosto, respectivamente.

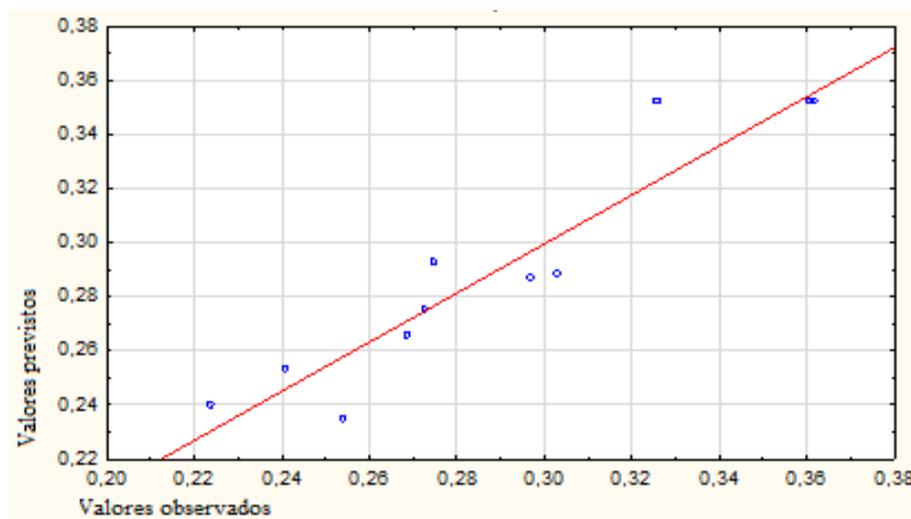
Nestas condições de teor de óleo de coco e concentração do mosto, a  $Q_p$  é aumentada para valores superiores a 0,362 g/L.h, o que pode ser verificado na superfície de resposta referente a este modelo (Figura 21).

**Figura 21** - Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa a Qp em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco.



O gráfico que demonstra a relação entre os valores observados e os valores preditos para o Qp é dado na Figura 22. Pode se verificar que os erros entre os valores observados e os preditos foram pequenos, caracterizando um modelo que ajusta bem os dados experimentais.

**Figura 22** - Gráfico dos valores observados em relação aos valores preditos para o QP



#### 5.4 DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO ÓTIMA PARA A PRODUTIVIDADE VOLUMÉTRICA EM ETANOL (Qp)

Após a determinação do modelo matemático empírico representativo da resposta de interesse, foi realizada a determinação da condição ótima para a Qp, na fermentação do mosto cervejeiro suplementado com óleo de coco.

Para localizar o ponto máximo da superfície de resposta não é necessária uma representação gráfica. O ponto máximo pode ser encontrado derivando-se a equação do modelo em relação a todas as variáveis e igualando-se as derivadas a zero (BARROS NETO *et al.*; 1995).

Derivando-se  $Y_1$  em relação a  $X_1$  e  $X_2$  obtém-se  $X_1 = 0,0$  e  $X_2 = 0,232$  como pontos ótimos matemáticos representativos da adição de óleo de coco e da concentração do mosto respectivamente, em termos de valores codificados. Os valores de  $X_1$  e  $X_2$  obtidos com o uso do óleo de dendê foram  $X_1 = 0,63640$  e  $X_2 = 0,42426$ , respectivamente.

#### 5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA PARA O RENDIMENTO REAL EM ETANOL (RRE)

A sequência da análise dos resultados do Rendimento Real em Etanol (RRE) foi a mesma proposta por Carvalho *et al.* (2009), sendo os cálculos dos efeitos, a estimativa do erro, interpretação dos resultados e a obtenção do modelo estatístico.

A Tabela 9 apresenta as estimativas dos efeitos, os erros-padrão, os níveis de significância e o teste t de “student” para o RRE. Na mesma tabela, observa-se que o efeito quadrático do teor do óleo de coco  $[F_{to}]^2$ , concentração do mosto linear  $[F_{cm}]$  e o efeito quadrático da concentração do mosto  $[F_{cm}]^2$  apresentaram significância estatística ao nível de 95 % de confiança, podendo ser evidenciado também através da Figura 23.

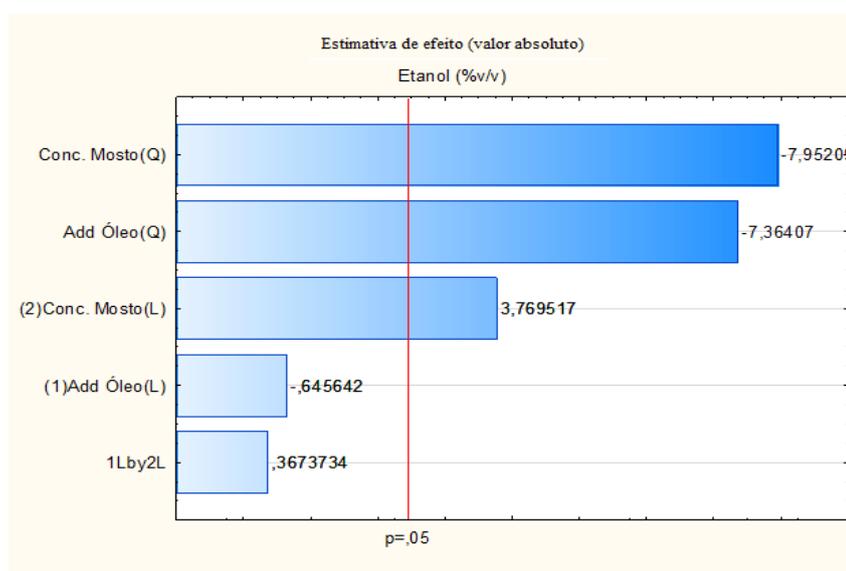
Pode-se observar na Tabela 9 que o efeito linear teor do óleo de coco  $[F_{to}]$  e a interação do efeito linear da concentração do mosto e do óleo de coco  $[F_{to}].[F_{cm}]$  não foram significativos a 95%. Desta forma, quando se passou do nível  $-1,41421$  (15,96 °P) para o nível  $+1,41421$  (23,04 °P) de concentração do mosto o RRE obteve um aumento de 7,66%.

**Tabela 9** - Estimativa dos efeitos, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância para o Rendimento Real em Etanol (RRE) seguindo um DCCR com quatro ensaios de ponto central e mais quatro ensaios em estrela rotacional  $2^2$ .

Fatores de interações	Estimativas	Erros-padrão	t	p
Média	8,23650	0,176932	46,55186	0,000000*
[Fto]	-0,16155	0,250219	-0,64564	0,542399
[Fto] <sup>2</sup>	-2,06012	0,279754	-7,36407	0,000321*
[Fcm]	0,94321	0,250219	3,76952	0,009294*
[Fcm] <sup>2</sup>	-2,22462	0,279754	-7,95209	0,000210*
[Fto],[Fcm]	0,13000	0,353863	0,36737	0,725950

R<sup>2</sup>=94,946%; R.Ajustado = 90,735% Residual=12,521% \*Significativo ao nível de 95 % de confiança.

**Figura 23** - Gráfico de Pareto que representa a estimativa de efeito de RRE á 5% da probabilidade de significância em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco.



Moonjai et al., (2002) afirmam que a suplementação do mosto com ácidos graxos insaturados poderá ser uma alternativa interessante à oxigenação do mosto para restaurar a fluidez da membrana ótima da levedura. Almeida e Silva (2005) descreve que a deficiência nutricional é um fator limitante da produção de cerveja com elevadas porcentagens de etanol. Com uma suplementação nutricional apropriada algumas estirpes de leveduras cervejeiras podem produzir até 16,2% v/v de etanol em fermentações descontínuas a 14°C utilizando mostos com 31°P.

Carrillo, et al (2011), trabalharam com a adição de 3,4 Unidades Anson (U.A.) de papaína para cada 100g de malte, no processo de mosturação. Os autores reportaram que a concentração de *Free Amino Nitrogen* (FAN) foi suficiente para manter boa velocidade de fermentação, e a cerveja apresentou concentração de etanol de 14,33% v/v, com máxima de eficiência no aproveitamento dos açúcares fermentescíveis. Segundo Wild, 2016 o aumento da concentração de azeite de oliva em seu experimento de substituição da aeração do mosto, influenciou no desempenho da fermentação diminuindo assim o tempo. Pois a levedura utiliza

o oxigênio para sintetizar esteróis e ácidos graxos, sendo assim esses lipídeos são essenciais para as membranas celulares.

**Tabela 10** - Análise de variância da regressão para o modelo que representa o rendimento real de etanol (RRE).

Fatores de interação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Valor de F	Valor de P
[Fto]	0,05220	1	0,052198	0,41685	0,542399
[Fto] <sup>2</sup>	6,79058	1	6,790584	54,22953	0,000321*
[Fcm]	1,77927	1	1,779274	14,20926	0,009294*
[Fcm] <sup>2</sup>	7,91833	1	7,918330	63,23570	0,000210*
Erro Puro	0,75132	6	0,125219	-	-
Total	14,86614	11	-	-	-

R<sup>2</sup> = 94,946%; R<sup>2</sup> ajustado = 90,735%; Erro puro na média quadrática = 0,1252193;

\*Significativo ao nível de 5 % da probabilidade.

Na Tabela 10 da ANOVA podemos observar a existência de uma relação estatística entre as variáveis concentração do mosto linear e quadrática, e teor do óleo de coco quadrático, sobre o RRE, ao nível de 95 % de confiança. O valor de R<sup>2</sup> indica que o modelo matemático permite explicar quase 95% da variabilidade nos resultados experimentais do RRE. O percentual não explicado é devido aos erros ocorridos na metodologia da própria análise e está relacionado com o erro puro dos experimentos.

A Tabela 10 apresenta também o valor de R<sup>2</sup> ajustado (90,735 %), o valor do erro puro estimado na média quadrática (0,1252193).

Com base nos resultados da análise de variância e dos níveis de significância (P) foi feita a análise da regressão múltipla para a estimativa dos coeficientes que compõem o modelo matemático quadrático representativo do RRE. Os resultados estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11** - Coeficientes de regressão, erros-padrão, teste t de “student” e níveis de significância do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com mais quatro ensaios de ponto central e quatro ensaios em estrela rotacional (DCCR) para o modelo que representa a RRE.

Variáveis independentes	Parâmetros	Coeficientes	Erros-padrão	T	p
Constante	Constante	8,23650	0,176932	46,55186	0,000000*
[Fto]	X <sub>1</sub>	-0,08078	0,125110	-0,64564	0,542399
[Fto] <sup>2</sup>	X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-1,03006	0,139877	-7,36407	0,000321*
[Fcm]	X <sub>2</sub>	0,47160	0,125110	3,76952	0,009294*

[Fcm] <sup>2</sup>	X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-1,11231	0,139877	-7,95209	0,000210*
[Fto] . [Fcm]	X <sub>1</sub> . X <sub>2</sub>	0,06500	0,176932	0,36737	0,725950

R<sup>2</sup> = 0,98836% e R<sup>2</sup> ajustado = 0,98400; \*Significativo ao nível de 95 % de confiança.

Com base nos dados obtidos na Tabela 11, a equação do modelo matemático quadrático foi proposta para descrever o RRE, a partir dos dados significativos:

$$Y_1 = 8,23650 - 1,03006 X_1^2 + 0,47160 X_2 - 1,11231 X_2^2$$

Onde:

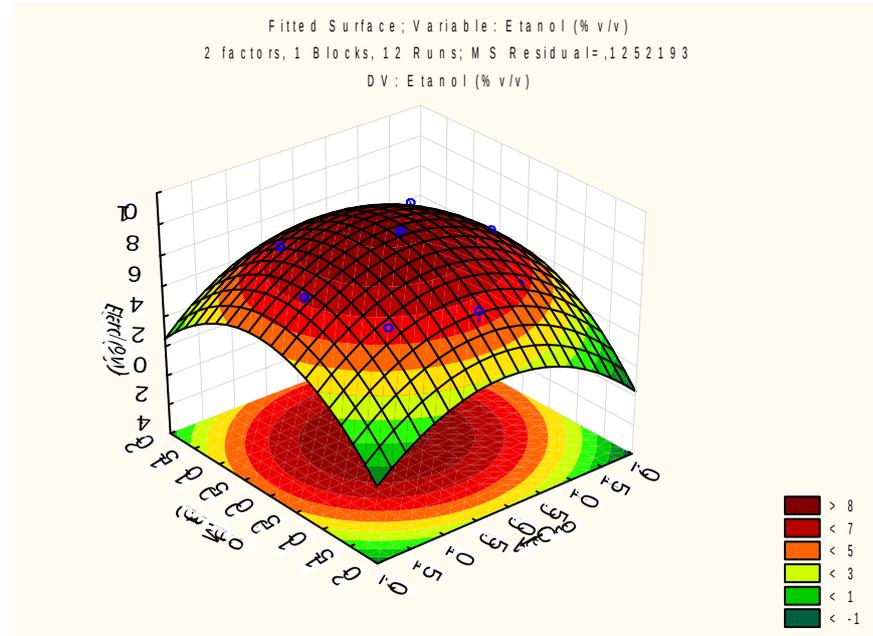
Y<sub>1</sub> é o Rendimento Real em Etanol,

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> são os fatores codificados: teor de óleo de coco e concentração do mosto, respectivamente.

Através deste modelo pode-se observar o favorecimento do RRE utilizando a concentração do mosto pois conforme Koblitz, (2008) relata que a fermentação de mostos super concentrados apresenta questões críticas, tais como fatores adversos de estresse (pressão osmótica e inibição pelo etanol) e altas concentrações de subprodutos metabólicos que são difíceis de evitar com um único método de produção.

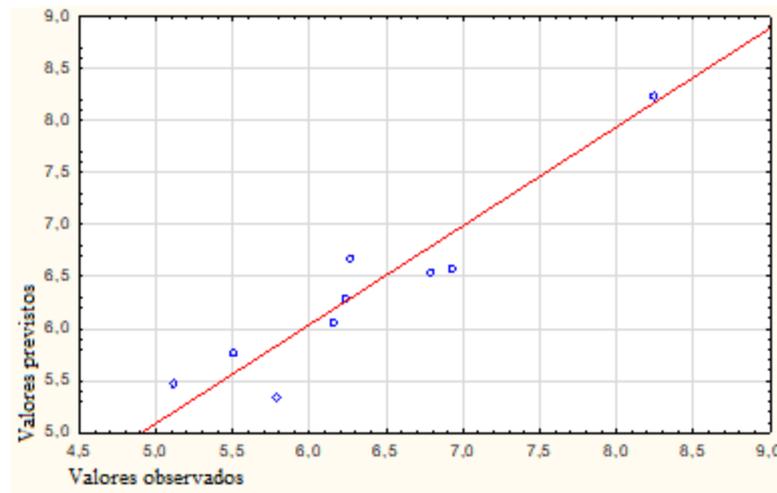
Estas condições do RRE podem ser verificadas na superfície de resposta referente a este modelo, Figura 24.

**Figura 24** - Superfície de resposta descrita pelo modelo proposto que representa o RRE em função da concentração do mosto e do teor de óleo de coco.



A Figura 25 mostra a relação entre os valores observados e os valores preditos para o RRE. Os erros foram pequenos entre os valores observados e os valores preditos, caracterizando um ajuste satisfatório dos dados experimentais.

**Figura 25** - Gráfico dos valores observados em relação aos valores preditos para o RRE.



## 5.5 DETERMINAÇÃO DA CONDIÇÃO ÓTIMA PARA O RENDIMENTO REAL EM ETANOL (RRE)

A condição ótima para o RRE, na fermentação do mosto cervejeiro suplementado com óleo de coco, foi determinada a partir do modelo matemático empírico. O ponto máximo da

superfície de resposta foi encontrado derivando-se a equação do modelo em relação a todas as variáveis e igualando-se as derivadas a zero (BARROS NETO et al.; 1995).

Derivando-se  $Y_1$  em relação a  $X_1$  e  $X_2$  obtém-se  $X_1 = 0,0$  e  $X_2 = 0,212$  como pontos ótimos matemáticos representativos da adição de óleo de coco e da concentração do mosto respectivamente, em termos de valores codificados.

## 5.6 CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO

### 5.6.1 Velocidades específicas

A velocidade específica descreve a evolução dos níveis de aporte inseridos no mosto para produção da cerveja sendo apresentado em forma de gráfico.

As velocidades específicas acompanhadas foram:

A Velocidade específica de crescimento celular é descrita como  $\mu_X = (dX/X*dt)$ ;

A Velocidade específica de consumo de substrato é descrita como  $\mu_S = (dE/X*dt)$ ;

A Velocidade específica de produção de etanol é descrita como  $\mu_P = (dP/X*dt)$ .

Onde:  $X$  (g/l) = concentração de células em suspensão no;  $dX$  (g/l) = concentração de células em suspensão geradas no instante  $dt$ ;  $dE$  (g/l) = concentração de extrato consumido no instante  $dt$ ;  $dP$  (g/l) = concentração de etanol produzido no instante  $dt$ .

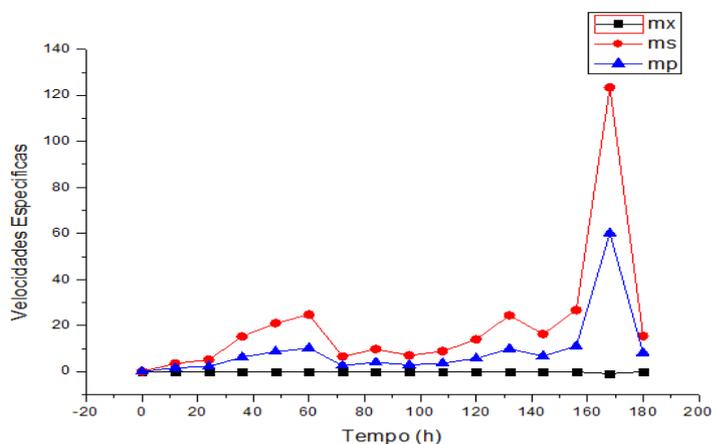
As velocidades específicas foram calculadas utilizando as equações do método geométrico de cálculo de derivadas proposto por Le Duy e Zajic (1973).

A temperatura de fermentação do mosto é um ponto bastante crítico e por esse motivo deve ser controlado (DRAGONE et al., 2003). As velocidades específicas de consumo de substrato e de produção de etanol, apresentam uma relação direta com a temperatura de fermentação, sendo que, quanto maior a temperatura utilizada, maiores serão os valores obtidos para estes parâmetros.

As velocidades específicas de crescimento celular, consumo de substrato e produção de etanol foram calculadas a partir dos dados ajustados das concentrações de células em suspensão, extrato e etanol durante a fase exponencial de crescimento.

A figura 26 descreve a trajetória do crescimento celular, consumo de substrato e produção de etanol. O crescimento celular durante o período de fermentação descrito se manteve constante, não teve o desenvolvimento esperado ou a contagem celular não foi fidedigna. O Consumo de substrato teve seu pico mais alto nas últimas horas de fermentação entre 160 e 180 horas, fato que refletiu o aumento na produção de etanol no mesmo tempo.

**Figura 26** - Velocidades específicas de Crescimento celular ( $\mu_x$ ), Consumo de substrato ( $\mu_s$ ) e Produção de etanol ( $\mu_p$ ) do ponto ótimo da fermentação.



### 5.6.2 Análise estatística de $Y_{p/s}$

A análise estatística dos resultados obtidos no planejamento de experimentos foi realizada utilizando-se o programa VISAR.

A tabela 12 descreve a significância dos fatores experimentais que foi avaliada pelo teste t de Tukey onde, pode-se observar que os tratamentos 4, 5, 6 e 12 foram significativos, e o tratamento 6 obteve maior média na análise estatística.

**Tabela 12** - Análise estatística de  $Y_{p/s}$  na fermentação de mosto de alta densidade com adição de óleo de coco

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
10	0,330333	a
9	0,33033	a
7	0.402333	b
11	0.402333	b
8	0.402333	b
1	0.405667	c
3	0.405667	c
2	0.405667	c
12	0.409333	d
4	0.432333	e
5	0.434333	f
6	0.562333	g

## 6. CONCLUSÕES

A caracterização do óleo de coco descreve um produto adequado para consumo, e que, por consequência, encontra-se em conformidade com a Resolução nº 270/2005 da Anvisa.

Pode-se inferir que o aumento da concentração do mosto e a suplementação nutricional com o óleo de coco, favoreceram a produtividade em etanol, sendo o ponto ótimo alcançado de 19,5 °P e 110 µL, de mosto e óleo de coco respectivamente.

Os modelos matemáticos obtidos e a metodologia de superfície de resposta foram uma estratégia eficiente para determinar o ponto ótimo de fermentação da produtividade volumétrica em etanol (Qp) e Etanol. A produtividade volumétrica em etanol alcançou 0,362 g/L.h e o rendimento real em etanol atingiu 8,237% (v/v), sendo valores favoráveis para a obtenção de uma cerveja de alta densidade.

Os efeitos dos fatores  $[F_{to}]^2$ ,  $[F_{cm}]$ , e  $[F_{cm}]^2$  sobre a produtividade volumétrica em etanol e sobre o rendimento real em etanol foram significativos a 95% de confiança, demonstrando que a suplementação nutricional com óleo de coco em mosto de alta densidade, é uma alternativa para as indústrias cervejeiras aumentarem a produtividade na fabricação da cerveja.

Pode-se concluir que a suplementação do mosto cervejeiro de alta densidade com óleo de coco melhorou o desempenho do processo fermentativo, além de agregar valor a essa matéria prima amplamente encontrada na região Nordeste com o desenvolvimento de um processo cervejeiro que seja mais viável economicamente.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Analisar a composição química da cerveja produzida com óleo de coco;
- Utilizar outros óleos provenientes da região do semiárido como já vem sendo feito com o óleo de dendê e de coco;
- Comparar o comportamento de outros tipos de leveduras cervejeiras, como a *Ale*, em mosto de alta densidade e com suplementação de óleo de coco como realizado neste projeto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, J; GUZMÁN, T. M; COBO, H; CARRILLO, R. Caracterización de las cepas de levadura en uso en las cervecerías. **Ciencia y Tecnología de los Alimentos**, v. 14, p. 5-12, 2004.
- AGUERO, S.D.; GARCIA, S.D.; CATALAN, J.S. Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades. **Nutrición Hospitalaria**, v.32, n.1, 2015.
- ADEMOLA, O.O.; YUSHIR, R.M.; BALAKRISHNA, P. Effects of fermentation temperature on the composition of beer volatile compounds, organoleptic quality and spent yeast density. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 2, 2011.
- ALBUQUERQUE, M. C. G.; RODRIGUES, J. S.; RAMOS FILHO, J. A. S.. **Avaliação físico-química dos óleos de babaçu (*Orbignya speciosa*) e coco (*Cocos nucifera*) com elevado índice de acidez e dos ácidos graxos (C6 a C16)**. 2017. 13 v. Dissertação - Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.
- ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO W. G. **Tecnologia de bebidas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 347 – 378 p.
- ALMEIDA E SILVA JB. **Inovações nos Processos de Obtenção de Bebidas Fermentadas e Destiladas**. In: VII BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, Dezembro, 2008, Lorena.
- Bai, F.W.; X.Q. Zhao, C. Xue, X.M. Ge,W.J. Yuan, J.Y.Wang. **Impact of zinc supplementation on the improvement of ethanol tolerance and yield of self-flocculating yeast in continuous ethanol fermentation**. Journal of Biotechnology 2008 Elsevier B.V.
- BAMFORTH, C. W. **Beer Health and Nutrition**. University of California, Davis. 2004 Blackwell Science Ltd
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Editora da Universidade Estadual de Campinas, 1995. 299 p.
- BARROS, S. P.; ANTONI, J. C.; PINI, J.G. **Alimentos nutracêuticos nutrem e protegem organismo Informativo do Hospital Centrinho/USP e Funcraf • Ano 9 • nº 49 • Bauru, dez. 2009 Qualidade de vida Cantinho da Nutrição (p.6-8)**  
[http://www.centrinho.usp.br/emfoco/file/foco\\_49/cantinho1\\_49.html](http://www.centrinho.usp.br/emfoco/file/foco_49/cantinho1_49.html) acesso dia 16.01.2017
- BOKULICH, N.; BAMFORH, C.W. The microbiology of malting and brewing. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.77, p.157-172, 2013.
- BORTOLI, D. A. S.; SANTOS, F.; STOCCO, N. M.; ORELLI A. J.; TOM, A.; NEME, F. F.; NASCIMENTO, D. D. Leveduras e produção de cervejas – Revisão. **Bioenergia em revista: diálogos**, ano 3, n. 1, p. 45-58, 2013.

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

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

BRIAN, R. G.; STEPHEN, J. L.; LECLAIRE. J. P. R.; CHIS, D. P. & SMART, K. A. **Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling**. Federation of European Microbiological Societies Published by Blackwell Publishing Ltd. 2007

CARRILLO, R.D; CARRILLO, R; MARTÍNEZ, O. Eficiencia en la fermentación de mosto para cerveza de súper alta densidad. **Ciencia y Tecnología de los Alimentos**, v. 21, p 65-68, 2011.

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

CARVALHO, G. B. M. **Obtenção de cerveja usando banana como adjunto e aromatizante**. 2009. 163f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2009.

CASEY, G.P.; MAGNUS, C.A.; INGLEDEW, W.M. **High-Gravity Brewing: Effects of Nutrition on Yeast Composition, Fermentative Ability, and Alcohol Production**. Applied and Environmental Microbiology, p. 639-646, 1984.

CLETO, FRANCISCO VICENTE GAIOTTO. **Indústria de bebidas: inovação, gestão e produção**, volume 3. São Paulo: Blucher, pág. 409. 2011

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

CROWE, J.H.; WHITTAM, A.A.; CHAPMAN, D.; CROWE, L.M. Interaction of phospholipid monolayers with carbohydrates. **Biochimimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.769, p.151-159, 1984.

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

ELBEIN, A.D.; PAN, Y.T.; PASTUSZAK, I.; CARROLL, D. New insights on trehalose: a multifunctional molecule. **Glycobiology**, Oxford, v.13, p.17-27, 2003.

ERASMUS, J.D.; VAN-DER-MERWE, K.G.; VAN-VUUREN, H.J.J. Genome-wide expression analyses: metabolic adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to high sugar stress. **FEMS Yeast Research**, Amsterdam, v.3, p.375-399, 2003.

Fan-Qiang Wang Æ Cui-Juan Gao Æ Chun-Yu Yang Æ Ping Xu. **Optimization of an ethanol production medium in very high gravity fermentation.** *Biotechnol Lett* (2007). People's Republic of China

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Química de Alimentos de Fennema**, 4ª ed, 2010

Gibson, Brian R., Lawrence, Stephen J., Leclaire, Jessica P. R., Powell, Chris D. & Smart, Katherine A. **Yeast responses to stresses associated with industrial brewery Handling** Federation of European Microbiological Societies Published by Blackwell Publishing Ltd. (*FEMS Microbiol*) Rev 31 pág 535–569. 2007

GUTIERREZ, L.E. Produção de glicerol por linhagens de *Saccharomyces* durante fermentação alcoólica. **Anais da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Piracicaba, n.48, p.55-69, 1991.

HENDERSON, C.M.; CONTRERAS, M.L.; JIRANEK, V.; LONGO, M.L.; BLOCO, D.E. Ethanol Production and Maximum Cell Growth Are Highly Correlated with Membrane Lipid Composition during Fermentation as Determined by Lipidomic Analysis of 22 *Saccharomyces cerevisiae* Strains. **Applied and Environmental Microbiology**, n. 79, 2013.

HENDERSON, C.M.; BLOCO, D.E. Examining the Role of Membrane Lipid Composition in Determining the Ethanol Tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiol**, v. 80, p. 2966-2972, 2014.

HULL, G. **Olive Oil Addition to Yeast as na Alternative to Wort Aeration.** New Belgium Brewing Company, Fort Collins, CO USA. 26/09/05

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MADIGAN, M. T; MARTINKO, J. M; DUNLAP, P. V; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock:** nutrição, cultura e metabolismo de micro-organismo. 12ª Ed. Porto Alegre: Artimed, 2010. 108, 113 p.

MAGALHÃES, C. C. A. **Estudo da produção de cerveja lager em mosto de alta densidade suplementado com óleo de dendê.** Caroline Cerqueira Araújo Magalhães. Feira de Santana, 2016.

MARTINS, Jakeline Santos; SANTOS, José Carlos Oliveira. **Estudo Comparativo das Propriedades de Óleo de Coco Obtido pelos Processos Industrial e Artesanal.** 2015. 10 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Campina Grande – Ufcp, Campina Grande, 2015.

MONTEIRO, E. O.; MARIN, C. T. **Alimentos funcionais.** *RBM Especiais*, v. 67, p. 10-19, 2010.

Mohammadi, Aniseh; Razavi, Seyyed Hadi\*; Mousavi, Seyyed Mohammad; Rezaei, Karamatollah. **“A COMPARISON BETWEEN SUGAR CONSUMPTION AND ETHANOL PRODUCTION IN WORT BY IMMOBILIZED SACCHAROMYCES**

**CEREVISIAE, SACCHAROMYCES LUDWIGII AND SACCHAROMYCES ROUXII ON BREWER'S SPENT GRAIN"**. Brazilian Journal of Microbiology, 2011

Moonjai, N; Verstrepen, KJ; Delvaux, FR; Derdelinckx, G.; Verachtert.H. 2002. **The effects of linoleic acid supplementation of cropped yeast on its subsequepte performance and acetate ester synthesis. Jornal of the Institute of Brewing.** Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.2050-0416.2002.tb00545.x/epdf>. Acessado em 17 set. 2016.

M MOURA, José Inácio Lacerda; LEITE, José Basílio Vieira. **COQUEIRO (Cocos nucifera):** Coqueiro. Disponível em: <https://www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/coqueiro>. Acesso em: 10 jul. 2017.

M MOURA, José Inácio Lacerda; LEITE, José Basílio Vieira. **Coco.** 2001. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/coco.htm>. Acesso em: 08 jul. 2017.

NETO, NIVALDO SILVA; SANTOS, JESSICA RENALLY MEDEIROS; MARTINS, JAKELINE SANTOS; FREIRE, MARILEIDE SANTOS; SANTOS, JOSÉ CARLOS OLIVEIRA. **Caracterização Química e Físico-química do Óleo de Coco extra virgem (Cocos nucifera L.).** Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. Paraíba. 2013

O'Connor-Cox, E.S.C.; J. Paik and W.M. Ingledew. **Improved ethanol yields through supplementation with excesso assimilable nitrogen.** Journal of Industrial Microbiology, pag 45-52.1991.

OETTERER, M.: D'ARCE, M. A. B. R.; SPOTO, M. H. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Barueri-SP: Manole, 2006, 612p.

OLIVEIRA, M. A.; BEZERRA, P. R. P.; NÓBREGA, P. F.; MEDEIROS, R. M.; MATIAS W. N.; MEDEIROS, V. M. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEO DE Cocos nucifera L. FRENTE A Artemia salina Leach. DE UMA AMOSTRA NATURAL E OUTRA INDUSTRIALIZADA NA CIDADE DE SOUSA-PB.** Revista Interdisciplinar em Saúde, Cajazeiras, 1 (2): 291-304, nov./dez. 2014

OLIVEIRA, Michaele Abrantes de; BEZERRA, Pâmula Raianne Pereira; NÓBREGA, Priscilla Formiga. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEO DE Cocos nucifera L. FRENTE A Artemia salina Leach. DE UMA AMOSTRA NATURAL E OUTRA INDUSTRIALIZADA NA CIDADE DE SOUSA-PB.** Revista Interdisciplinar em Saúde, Cajazeiras, Paraíba, v. 2, n. 1, p.291-304, nov/dez. 2014. Mensal.

42. PANEK, A.D.; MANSURE, J.J.C.; ELEUTHERIO, E.C.A. **Cryobiology**, San Diego, v.30, p.238-239, 1993.

POLIANA, J. **Brewer's Yeast: Genetics and Biotechnology.** Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Applied Mycology and Biotechnology Volume 2. Agriculture and Food Production 1. 2002 Elsevier Science B.V.

PULIGUNDLA, P.; SMOGROVICOVA, D.; SARATHI, V.R.O.; KO, SANGHOON. Very high gravity (VHG) ethanolic brewing and fermentation a research update. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 38, p. 1133–1144, 2011.

RAMOS, Cíntia Lacerda, Duarte, Whasley Ferreira, Freire, Ana Luiza, Dias, Disney Ribeiro, Eleutherio, Elis Cristina Araújo, Schwan, Rosane Freitas. **Evaluation of stress tolerance and fermentative behavior of indigenous *Saccharomyces cerevisiae***. Brazilian Journal of Microbiology 44, 3, 935-944. 2013

Salvato, Flavia. **Fermentação de mosto industrial por linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* com transportador de sacarose e sobre expressão de invertase interna: estudo comparativo com linhagens com alta e baixa atividade de invertase externa** / Flavia Salvato. - - Piracicaba, 2010.

SANTOS, M. S.; RIBEIRO, F. M. **Cervejas e refrigerantes**. São Paulo : CETESB, 2005. 58 p. (1 CD) : il. ; 30 cm. - - (Série P + L). Disponível em : <<http://www.cetesb.sp.gov.br>>

SMART, K. **Brewing Yeast Fermentation Performance**. Second edition. Oxford Brookes University. Oxford, UK. Blackwell Science 2003

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

Šuranská, Hana, Vránová, Dana, Omelková, Jiřina. **Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains**. Brazilian Journal of Microbiology. 47 pág. 181–190. 2016

TASSARA, Helena. O Poder das Frutas. **A história do coco-da-baía**. Disponível em: <<http://poderdasfrutas.com/a-historia-do-coco-da-baia/>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

TECHAPARIN, Atiya, Thanonkeo, Pornthap, Klanrit, Preekamol. **High-temperature ethanol production using thermotolerant yeast newly isolated from Greater Mekong Subregion**. Brazilian Journal of Microbiology 48 pág 461–475 (2017)

THAMMASITTIRONG, S.N.R.; THIRASAKTANA, T.; THAMMASITTIRONG, A.; SRISODSUK, M. Improvement of ethanol production by ethanol-tolerant *Saccharomyces cerevisiae* UVNR56. **Springer Plus**, v. 2, 2013.

TRELEA, I.C.; TITICA, M.; LANDAUD, S.; LATRILLE, E.; CORRIEU, G.; CHERUY, A. Predictive modelling of brewing fermentation: from knowledge-based to black box models. **Mathematics and Computers in Simulation**, v.56, p.405–424, 2001.

VENTURINI FILHO, W. G.; CEREDA, M. P. Cerveja. In: ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial. Volume 4. Biotechnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Edgar Blucher, 2001. p.91-144.

VIRKAJÄRVI, I. **Feasibility of continuous main fermentation of beer using immobilized yeast**. 2001. 137p. Tese (Doutorado em Tecnologia), HUT, Helsinki, Finlândia, 2001.

Zenebon, Odair, Pascuet, Neus Sadocco e Tiglea, Paulo. **Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1ª ed. digital 2008 p. 1020

## APÊNDICES

### Tabelas dos ensaios realizados

Extrato aparente (g/L) = Extrato aparente (°P) x Densidade do mosto (g/mL) x 10

Etanol (g/L) = Etanol (%v/v) x 0,789 (g/mL) x10

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

**Tabela 1:** Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 0,5 µl de adição do óleo de coco e 17°P da concentração do mosto (Ensaio 1)

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
0	1,18E+06	1,14E+06	17,72	1,0729	0,3021	190,118	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
12	1,73E+06	1,63E+06	17,56	1,0722	0,4003	188,278	0,098	0,775	0,065	0,421	0,960
24	1,45E+06	1,14E+06	17,56	1,0722	0,4003	188,278	0,098	0,775	0,032	0,421	0,960
36	8,10E+05	7,20E+05	16,11	1,0659	1,2742	171,716	0,972	7,670	0,213	0,417	9,602
48	9,20E+05	7,00E+05	16,11	1,0659	1,2742	171,716	0,972	7,670	0,160	0,417	9,602
60	1,61E+06	1,45E+06	15,79	1,0645	1,4659	168,085	1,164	9,182	0,153	0,417	11,523
72	1,80E+06	1,60E+06	15,30	1,0624	1,7518	162,547	1,450	11,438	0,159	0,415	14,403
84	1,08E+06	8,45E+05	15,30	1,0624	1,7518	162,547	1,450	11,438	0,136	0,415	14,403
96	2,10E+06	1,72E+06	15,00	1,0611	1,9413	159,165	1,639	12,933	0,135	0,418	16,187
108	1,12E+06	1,09E+06	14,18	1,0576	2,4110	149,968	2,109	16,639	0,154	0,414	20,988
120	6,15E+05	5,60E+05	13,22	1,0535	2,9675	139,273	2,665	21,030	0,175	0,414	26,612
132	4,15E+05	4,05E+05	12,08	1,0487	3,6068	126,683	3,305	26,074	0,198	0,411	33,196
144	6,00E+04	6,00E+04	11,43	1,0460	3,9675	119,558	3,665	28,920	0,201	0,410	36,900
156	8,50E+04	8,00E+04	10,96	1,0440	4,2357	114,422	3,934	31,036	0,199	0,410	39,643
168	4,40E+05	3,70E+05	10,16	1,0407	4,6785	105,735	4,376	34,530	0,206	0,409	44,170
180	3,85E+05	2,50E+05	8,05	1,0320	5,8054	83,076	5,503	43,421	0,241	0,406	56,104

**Tabela 2:** Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 0,5 µl de adição do óleo de coco e 22°P de concentração do mosto (Ensaio 2)

Temp	Célula	Célula	°Plat	Densida	Etano	Extrat	Etan	Etano	Qp	Y p/s	GAF
------	--------	--------	-------	---------	-------	--------	------	-------	----	-------	-----

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
0	1,17E+07	1,15E+07	20,25	1,0841	0,3020	219,53	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00
12	1,39E+07	1,36E+07	14,91	1,0607	3,5387	158,15	3,237	25,54	2,128	0,416	27,82
24	1,26E+07	1,22E+07	13,59	1,0551	4,2860	143,39	3,984	31,43	1,310	0,413	34,48
36	6,97E+06	6,69E+06	11,79	1,0475	5,2906	123,50	4,989	39,36	1,093	0,410	43,52
48	2,12E+06	2,00E+06	11,79	1,0475	5,2906	123,50	4,989	39,36	0,820	0,410	43,52
60	1,27E+06	1,15E+06	11,79	1,0475	5,2906	123,50	4,989	39,36	0,656	0,410	43,52
72	5,01E+06	4,83E+06	9,85	1,0394	6,3567	102,38	6,055	47,77	0,663	0,408	53,15
84	1,80E+06	1,69E+06	9,36	1,0374	6,6184	97,10	6,316	49,84	0,593	0,407	55,53
96	1,44E+06	1,38E+06	9,36	1,0374	6,6184	97,10	6,316	49,84	0,519	0,407	55,53
108	5,10E+05	4,85E+05	9,19	1,0367	6,7053	95,27	6,403	50,52	0,468	0,407	56,36
120	6,50E+04	6,50E+04	9,02	1,0360	6,7919	93,45	6,490	51,21	0,427	0,406	57,19
132	6,15E+05	5,60E+05	8,85	1,0353	6,8783	91,62	6,576	51,89	0,393	0,406	58,03
144	4,15E+05	4,05E+05	8,71	1,0347	6,6945	90,12	6,393	50,44	0,350	0,390	58,74
156	3,20E+05	2,35E+05	8,36	1,0333	7,1363	86,38	6,834	53,92	0,346	0,405	60,40
168	3,10E+05	1,75E+05	8,22	1,0327	7,2219	84,89	6,920	54,60	0,325	0,406	61,12
180	3,05E+05	2,75E+05	8,22	1,0327	7,2219	84,89	6,920	54,60	0,303	0,406	61,12

**Tabela 3: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 220 µl de adição do óleo de coco e 22°P de concentração do mosto (Ensaio 3)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
0	2,25E+05	2,25E+05	20,65	1,0859	0,3003	224,24	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00
12	6,50E+05	5,90E+05	20,49	1,0852	0,4028	222,36	0,103	0,81	0,067	0,000	0,81
24	2,75E+05	2,60E+05	20,49	1,0852	0,4028	222,36	0,103	0,81	0,034	0,000	0,81
36	4,80E+05	4,55E+05	20,34	1,0845	0,5049	220,59	0,205	1,61	0,045	0,442	1,63
48	4,45E+05	3,75E+05	20,00	1,0830	0,7086	216,60	0,408	3,22	0,067	0,422	3,38
60	8,50E+05	6,50E+05	19,19	1,0794	1,2134	207,14	0,913	7,20	0,120	0,421	7,57
72	1,02E+06	8,85E+05	17,90	1,0737	2,009	192,19	1,709	13,48	0,187	0,421	14,20
84	9,90E+05	6,95E+05	17,40	1,0715	2,3035	186,44	2,003	15,81	0,188	0,418	16,76
96	1,09E+06	7,00E+05	15,30	1,0624	3,5556	162,55	3,255	25,68	0,268	0,416	27,36
108	1,12E+06	6,10E+05	14,48	1,0589	4,027	153,33	3,727	29,40	0,272	0,415	31,43
120	2,01E+06	1,17E+06	13,99	1,0568	4,3072	147,85	4,007	31,61	0,263	0,414	33,88
132	1,39E+06	7,80E+05	12,86	1,0520	4,9531	135,29	4,653	36,71	0,278	0,413	39,46
144	1,36E+06	8,70E+05	11,39	1,0458	5,7679	119,12	5,468	43,14	0,300	0,410	46,68
156	1,47E+06	7,55E+05	10,72	1,0430	6,1244	111,81	5,824	45,95	0,295	0,409	49,94
168	9,55E+05	5,15E+05	9,92	1,0397	6,5653	103,13	6,265	49,43	0,294	0,408	53,83
180	6,80E+05	4,30E+05	8,93	1,0356	7,0873	92,48	6,787	53,55	0,297	0,406	58,56

**Tabela 4: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 220 µl de adição do óleo de coco e 17°P de concentração do mosto (Ensaio 4)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
-----------	------------------	-------------------------	--------	-----------	-----------------------	------------------------	----------------	--------------	------------	-------------	---------

	)	eis (cél/L)			volu me (%)	nte (g/ L)	v)			g)	
0	1,43E+0 6	1,40E+ 06	18,22	1,0751	0,3035	195,88 3	0,000	0,000	0,000	0,00 0	0,000
12	1,75E+0 6	1,69E+ 06	18,06	1,0744	0,4024	194,03 7	0,099	0,780	0,065	0,42 3	0,932
24	1,41E+0 6	1,11E+ 06	18,06	1,0744	0,4024	194,03 7	0,099	0,780	0,033	0,42 3	0,932
36	1,04E+0 6	9,15E+ 05	15,65	1,0639	1,8591	166,50 0	1,556	12,27 4	0,341	0,52 0	14,91 3
48	8,25E+0 5	6,80E+ 05	15,65	1,0639	1,8591	166,50 0	1,556	12,27 4	0,256	0,52 0	14,91 3
60	1,61E+0 6	1,38E+ 06	15,49	1,0632	1,9544	164,69 0	1,651	13,02 6	0,217	0,51 2	15,84 6
72	2,03E+0 6	1,83E+ 06	14,84	1,0604	2,3334	157,36 3	2,030	16,01 6	0,222	0,48 9	19,57 4
84	1,32E+0 6	1,03E+ 06	14,67	1,0597	2,4276	155,45 8	2,124	16,75 9	0,200	0,48 4	20,50 6
96	2,64E+0 6	2,28E+ 06	14,51	1,0590	2,5215	153,66 1	2,218	17,50 0	0,182	0,48 0	21,43 8
108	9,25E+0 5	8,70E+ 05	13,71	1,0556	2,9880	144,72 3	2,685	21,18 1	0,196	0,46 7	25,96 5
120	3,65E+0 5	3,35E+ 05	12,74	1,0515	3,5406	133,96 1	3,237	25,54 1	0,213	0,45 5	31,42 5
132	1,85E+0 5	1,75E+ 05	11,60	1,0467	4,1754	121,41 7	3,872	30,54 9	0,231	0,44 5	37,81 6
144	5,10E+0 5	4,95E+ 05	11,12	1,0447	4,4442	116,17 1	4,141	32,67 0	0,227	0,44 2	40,47 9
156	1,45E+0 5	1,35E+ 05	10,16	1,0407	4,9762	105,73 5	4,673	36,86 8	0,236	0,43 7	45,80 6
168	3,05E+0 5	2,85E+ 05	9,99	1,0400	5,0642	103,89 6	4,761	37,56 2	0,224	0,43 6	46,73 8
180	5,45E+0 5	4,60E+ 05	9,34	1,0373	5,4138	96,884	5,110	40,32 0	0,224	0,43 2	50,33 3

**Tabela 5: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 110 µl de adição do óleo de coco e 19,5°P de concentração do mosto (Ensaio 5)**

Tem po (h)	Célul as (cél/mL)	Célul as Viáv eis (cél/L)	°Plat ô	Densid ade	Etano l por volu me (%)	Extrat o Apare nte (g/ L)	Etan ol (% v/v)	Etan ol (g/L)	Qp (g/L. h)	Y p/ s (g/ g)	GAF (%)
0	1,17E+0 7	1,15E+ 07	17,63	1,0725	0,2862	189,08	0,00 0	0,00	0,000	0,00 0	13,7 9
12	1,28E+0 7	1,23E+ 07	12,48	1,0504	3,3295	131,09	3,04 3	24,01	2,001	0,41 4	40,0 7
24	6,82E+0 6	6,49E+ 06	9,90	1,0396	4,7597	102,92	4,47 4	35,30	1,471	0,30 3	52,9 1
36	1,97E+0 6	1,90E+ 06	9,41	1,0376	5,0219	97,64	4,73 6	37,36	1,038	0,30 7	55,2 9
48	6,75E+0 5	6,10E+ 05	9,10	1,0363	5,1956	94,30	4,90 9	38,74	0,807	0,30 9	56,8 4
60	4,25E+0	3,85E+	8,27	1,0329	5,6264	85,42	5,34	42,13	0,702	0,31	60,8

72	1,42E+05	1,38E+05	8,27	1,0329	5,6264	85,42	5,340	42,13	0,585	0,314	60,88
84	8,55E+05	7,80E+05	8,12	1,0323	5,7119	83,82	5,426	42,81	0,510	0,315	61,59
96	9,85E+05	9,00E+05	7,80	1,0310	5,8824	80,42	5,596	44,15	0,460	0,317	63,14
108	6,95E+05	6,40E+05	7,80	1,0310	5,8824	80,42	5,596	44,15	0,409	0,317	63,14
120	3,65E+05	3,35E+05	7,63	1,0303	5,9673	78,61	5,681	44,82	0,374	0,318	63,97
132	1,85E+05	1,75E+05	7,63	1,0303	5,9673	78,61	5,681	44,82	0,340	0,318	63,97
144	3,50E+05	2,30E+05	7,63	1,0303	5,9673	78,61	5,681	44,82	0,311	0,318	63,97
156	3,35E+05	2,05E+05	7,46	1,0296	6,0520	76,81	5,766	45,49	0,292	0,319	64,80
168	3,00E+04	3,00E+04	7,31	1,0290	6,1366	75,22	5,850	46,16	0,275	0,320	65,52
180	5,10E+05	4,35E+05	6,78	1,0277	7,2360	69,68	8,237	64,99	0,362	0,434	67,06

**Tabela 6: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 110 µl de adição do óleo de coco e 19,5°P de concentração do mosto (Ensaio 6)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
0	1,27E+06	1,23E+06	20,76	1,0864	0,2011	225,537	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00
12	1,90E+06	1,82E+06	20,76	1,0864	0,2999	225,537	0,099	0,780	0,032	0,000	0,00
24	1,28E+06	1,05E+06	20,60	1,0857	0,4024	223,654	0,201	1,588	0,044	0,844	0,81
36	1,18E+06	1,14E+06	18,65	1,0770	1,6145	200,861	1,413	11,152	0,232	0,452	10,88
48	1,30E+06	1,02E+06	18,65	1,0770	1,6145	200,861	1,413	11,152	0,186	0,452	10,88
60	1,29E+06	1,23E+06	18,33	1,0756	1,8132	197,157	1,612	12,719	0,177	0,448	12,50
72	1,75E+06	1,57E+06	17,67	1,0727	2,2078	189,546	2,007	15,833	0,188	0,440	15,86
84	1,13E+06	8,45E+05	17,67	1,0727	2,2078	189,546	2,007	15,833	0,165	0,440	15,86
96	1,48E+06	1,30E+06	17,51	1,0720	2,3058	187,707	2,105	16,606	0,154	0,439	16,67
108	1,32E+06	1,18E+06	16,53	1,0677	2,8894	176,491	2,688	21,211	0,177	0,432	21,64
120	2,74E+06	2,48E+06	15,23	1,0621	3,6546	161,758	3,454	27,248	0,206	0,427	28,13
132	1,67E+06	1,53E+06	14,58	1,0593	4,0318	154,446	3,831	30,224	0,210	0,425	31,37
144	6,30E+05	6,10E+05	14,09	1,0572	4,3124	148,959	4,111	32,438	0,208	0,424	33,80

156	1,60E+05	1,60E+05	13,92	1,0565	4,4055	147,065	4,204	33,173	0,197	0,423	34,61
168	3,65E+05	3,25E+05	11,48	1,0462	5,7752	120,104	5,574	43,980	0,262	0,417	46,53
180	5,75E+05	4,90E+05	10,78	1,0192	6,2540	109,870	8,236	64,982	0,361	0,562	77,78

**Tabela 7: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 110 µl de adição do óleo de coco e 19,5°P de concentração do mosto (Ensaio 7)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
0	8,45E+05	4,60E+05	20,76	1,0864	0,2999	225,54	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00
12	4,70E+05	2,85E+05	17,99	1,0741	2,0109	193,23	1,711	13,50	1,125	0,418	14,24
24	6,15E+05	5,20E+05	17,35	1,0713	2,4037	185,87	2,104	16,60	0,692	0,418	17,48
36	6,45E+05	4,95E+05	15,88	1,0649	3,2738	169,11	2,974	23,46	0,652	0,416	24,88
48	5,70E+05	5,30E+05	15,72	1,0642	3,3694	167,29	3,070	24,22	0,505	0,416	25,69
60	5,15E+05	4,75E+05	14,58	1,0593	4,0318	154,45	3,732	29,44	0,491	0,414	31,37
72	4,15E+05	3,85E+05	13,76	1,0558	4,4983	145,28	4,198	33,13	0,460	0,413	35,42
84	4,95E+05	3,95E+05	11,15	1,0448	5,9541	116,50	5,654	44,61	0,531	0,409	48,15
96	6,45E+05	6,35E+05	10,67	1,0428	6,2209	111,27	5,921	46,72	0,487	0,409	50,46
108	2,75E+05	2,65E+05	10,33	1,0414	6,3977	107,58	6,098	48,11	0,445	0,408	52,08
120	5,75E+05	3,90E+05	7,73	1,0307	7,7819	79,67	7,482	59,03	0,492	0,405	64,47
132	8,45E+05	6,55E+05	7,38	1,0293	7,9512	75,96	7,651	60,37	0,457	0,404	66,09
144	7,30E+05	6,30E+05	7,06	1,0280	8,1197	72,58	7,820	61,70	0,428	0,403	67,59
156	1,02E+06	8,30E+05	6,74	1,0267	8,2874	69,20	7,988	63,02	0,404	0,403	69,10
168	8,35E+05	7,30E+05	6,57	1,0260	8,3709	67,41	8,071	63,68	0,379	0,403	69,91
180	6,75E+05	6,00E+05	6,25	1,0247	8,5373	64,04	8,237	64,99	0,361	0,402	71,41

**Tabela 8: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 110 µl de adição do óleo de coco e 19,5°P de concentração do mosto (Ensaio 8)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis	Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
-----------	------------------	-----------------	-------	-----------	-----------------------	------------------------	----------------	--------------	------------	-------------	---------

	)	eis (cél/ L)		volu me (%)	nte (g/ L)	v)	)				
0	1,08E+07	1,07E+07	18,33	1,0756	0,2930	197,16	0,000	0,00	0,00	0,00	10,1
12	1,33E+07	1,31E+07	12,67	1,0512	3,6369	133,19	3,344	26,38	2,19	0,30	39,1
24	7,46E+06	7,20E+06	9,44	1,0377	5,4213	97,96	5,128	40,46	1,68	0,33	55,1
36	1,94E+06	1,80E+06	8,95	1,0357	5,6817	92,70	5,389	42,52	1,18	0,33	57,5
48	1,63E+06	1,35E+06	8,95	1,0357	5,6817	92,70	5,389	42,52	0,88	0,33	57,5
60	1,66E+06	1,49E+06	8,80	1,0351	5,7681	91,09	5,475	43,20	0,72	0,33	58,2
72	1,07E+07	1,02E+07	8,46	1,0337	5,9402	87,45	5,647	44,56	0,61	0,33	59,9
84	4,35E+06	4,06E+06	7,83	1,0311	6,2821	80,74	5,989	47,25	0,56	0,34	63,0
96	8,46E+06	8,13E+06	7,33	1,0291	6,5363	75,43	6,243	49,26	0,51	0,34	65,4
108	6,97E+06	6,73E+06	7,33	1,0291	6,5363	75,43	6,243	49,26	0,45	0,34	65,4
120	2,74E+06	2,48E+06	7,19	1,0285	6,6206	73,95	6,328	49,92	0,41	0,34	66,1
132	1,67E+06	1,53E+06	7,01	1,0278	6,7048	72,05	6,412	50,59	0,38	0,34	66,9
144	1,53E+06	1,40E+06	6,84	1,0271	6,7887	70,25	6,496	51,25	0,35	0,34	67,7
156	1,34E+06	1,23E+06	6,52	1,0258	6,9560	66,88	6,663	52,57	0,33	0,34	69,3
168	2,55E+05	2,25E+05	6,20	1,0245	7,1225	63,52	6,830	53,88	0,32	0,34	70,8
180	7,70E+05	5,75E+05	5,68	1,0232	7,8282	58,12	8,236	64,98	0,36	0,40	72,4

**Tabela 9: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 0,04521 µl de adição do óleo de coco e 19,5°P de concentração do mosto (Ensaio 9)**

Tem po (h)	Célul as (cél/mL )	Célul as Viáv eis (cél/L )	°Plat ô	Densid ade	Etano l por volum e (%)	Extrat o Apare nte (g/ L)	Etan ol (% v/ v)	Etan ol (g/L)	Qp (g/L. h)	Y p/ s (g/g )	GAF (%)
0	4,55E+05	4,55E+05	18,33	1,0756	0,3037	197,16	0,000	0,00	0,000	0,00	11,99
12	4,05E+05	3,45E+05	18,17	1,0749	0,4028	195,31	0,099	0,78	0,065	0,42	12,81
24	2,35E+05	2,00E+05	17,86	1,0735	0,6003	191,73	0,297	2,34	0,098	0,07	14,44
36	3,80E+05	3,70E+05	17,86	1,0735	0,6003	191,73	0,297	2,34	0,065	0,07	14,44
48	6,85E+05	4,30E+05	17,19	1,0706	0,9925	184,04	0,689	5,43	0,113	0,13	17,81
60	6,85E+05	5,50E+05	16,55	1,0678	1,3810	176,72	1,077	8,50	0,142	0,17	21,07

72	1,35E+06	1,08E+06	15,42	1,0629	2,0522	163,90	1,749	13,80	0,192	0,229	26,78
84	9,60E+05	6,45E+05	14,46	1,0588	2,6188	153,10	2,315	18,27	0,217	0,257	31,55
96	1,11E+06	7,20E+05	13,00	1,0526	3,4537	136,84	3,150	24,85	0,259	0,284	38,77
108	6,70E+05	3,90E+05	12,51	1,0505	3,7281	131,42	3,424	27,02	0,250	0,291	41,21
120	1,15E+06	7,80E+05	10,91	1,0438	4,6288	113,88	4,325	34,13	0,284	0,309	49,01
132	9,15E+05	5,55E+05	9,77	1,0391	5,2466	101,52	4,943	39,00	0,295	0,318	54,48
144	2,12E+06	1,27E+06	9,12	1,0364	5,5951	94,52	5,291	41,75	0,290	0,322	57,63
156	5,50E+05	3,20E+05	8,46	1,0337	5,9402	87,45	5,637	44,47	0,285	0,325	60,77
168	2,70E+05	1,75E+05	7,65	1,0304	6,3670	78,83	6,063	47,84	0,285	0,329	64,61
180	4,00E+05	2,35E+05	7,33	1,0291	6,5363	75,43	6,233	49,18	0,273	0,330	66,12

**Tabela 10: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 265 µl de adição do óleo de coco e 19,5°P de concentração do mosto (Ensaio 10)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y p/s (g/g)	GAF (%)
0	2,25E+05	2,10E+05	18,33	1,0756	0,3037	197,16	0,000	0,00	0,000	0,000	11,99
12	4,40E+05	3,40E+05	18,33	1,0756	0,3037	197,16	0,000	0,00	0,000	0,000	11,99
24	2,65E+05	2,10E+05	18,17	1,0749	0,4028	195,31	0,099	0,78	0,033	0,027	12,81
36	1,35E+05	1,15E+05	18,01	1,0742	0,5016	193,46	0,198	1,56	0,043	0,051	13,62
48	4,75E+05	3,80E+05	17,86	1,0735	0,6003	191,73	0,297	2,34	0,049	0,072	14,44
60	6,65E+05	5,75E+05	17,19	1,0706	0,9925	184,04	0,689	5,43	0,091	0,135	17,81
72	1,12E+06	9,25E+05	15,90	1,0650	1,7659	169,34	1,462	11,54	0,160	0,210	24,33
84	3,85E+05	2,60E+05	14,93	1,0608	2,3365	158,38	2,033	16,04	0,191	0,244	29,22
96	1,04E+06	6,80E+05	14,95	1,0609	2,3365	158,60	2,033	16,04	0,167	0,244	29,10
108	9,75E+05	5,00E+05	13,33	1,0540	3,2697	140,50	2,966	23,40	0,217	0,279	37,14
120	1,07E+06	6,30E+05	13,33	1,0540	3,2697	140,50	2,966	23,40	0,195	0,279	37,14
132	9,70E+05	5,45E+05	11,05	1,0444	4,5397	115,41	4,236	33,42	0,253	0,307	48,31
144	2,03E+06	1,29E+06	10,09	1,0404	5,0712	104,98	4,768	37,6	0,261	0,31	52,97

156	1,08E+06	6,55E+06	9,44	1,0377	5,4213	97,96	5,118	40,38	0,259	0,320	56,11
168	1,20E+06	6,55E+06	8,46	1,0337	5,9402	87,45	5,637	44,47	0,265	0,325	60,77
180	5,55E+05	2,80E+05	7,51	1,0298	6,4518	77,34	6,148	48,51	0,269	0,330	65,31

**Tabela 11: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 110 µl de adição do óleo de coco e 15,96°P de concentração do mosto (Ensaio 11)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y <sub>p/s</sub> (g/g)	GAF (%)
0	2,80E+05	2,50E+05	15,02	1,0612	0,2822	159,39	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00
12	4,00E+05	3,40E+05	14,86	1,0605	0,3768	157,59	0,095	0,75	0,062	0,000	1,14
24	2,75E+05	4,00E+05	14,72	1,0599	0,4711	156,02	0,189	1,49	0,062	0,000	2,12
36	2,15E+05	1,70E+05	14,23	1,0578	0,7526	150,52	0,470	3,71	0,103	0,419	5,56
48	4,75E+05	3,80E+05	13,76	1,0558	1,0322	145,28	0,750	5,92	0,123	0,419	8,82
60	1,16E+06	9,05E+05	13,26	1,0537	1,3098	139,72	1,028	8,11	0,135	0,412	12,25
72	1,50E+06	1,25E+06	11,84	1,0477	2,1312	124,05	1,849	14,59	0,203	0,413	22,06
84	2,04E+06	1,36E+06	11,05	1,0444	2,5800	115,41	2,298	18,13	0,216	0,412	27,45
96	1,25E+06	8,55E+05	9,61	1,0384	3,3748	99,79	3,093	24,40	0,254	0,409	37,25
108	6,15E+05	3,50E+05	8,97	1,0358	3,7227	92,91	3,441	27,15	0,251	0,408	41,50
120	1,49E+06	1,07E+06	7,68	1,0305	4,4087	79,14	4,127	32,56	0,271	0,406	50,16
132	1,00E+06	5,75E+05	6,74	1,0267	4,9147	69,20	4,633	36,55	0,277	0,405	56,37
144	1,33E+06	8,55E+05	5,78	1,0228	5,4136	59,12	5,131	40,49	0,281	0,404	62,75
156	9,00E+05	4,45E+05	5,45	1,0215	5,5783	55,67	5,296	41,79	0,268	0,403	64,87
168	4,10E+05	2,75E+05	4,83	1,0190	5,9054	49,22	5,623	44,37	0,264	0,403	68,95
180	6,70E+05	4,90E+05	4,50	1,0177	6,0678	45,80	5,786	45,65	0,254	0,402	71,08

**Tabela 12: Fermentação do mosto cervejeiro nas condições de 110 µl de adição do óleo de coco e 23,04°P de concentração do mosto (Ensaio 12)**

Tempo (h)	Células (cél/mL)	Células Viáveis (cél/L)	°Platô	Densidade	Etanol por volume (%)	Extrato Aparente (g/L)	Etanol (% v/v)	Etanol (g/L)	Qp (g/L.h)	Y <sub>p/s</sub> (g/g)	GAF (%)
0	2,60E+05	2,35E+05	21,67	1,0905	0,2942	236,31	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00
12	3,75E+05	3,35E+05	21,67	1,0905	0,2942	236,31	0,000	0,00	0,000	0,000	0,00
24	1,95E+05	1,85E+05	21,51	1,0898	0,3980	234,42	0,104	0,82	0,034	0,432	1,14
36	2,75E+05	2,25E+05	21,51	1,0898	0,3980	234,42	0,104	0,82	0,023	0,432	1,14
48	6,25E+05	4,80E+05	20,69	1,0861	0,9139	224,71	0,620	4,89	0,102	0,422	7,19
60	9,30E+05	7,20E+05	20,49	1,0852	1,4236	222,36	1,129	8,91	0,14	0,639	8,66

72	2,21E+0 5 6	1,62E+ 05 06	18,74	1,0774	2,1273	201,90	1,833	14,46	0,20 9 1	0,420	21,41
84	2,08E+0 6	1,08E+ 06	18,26	1,0753	2,4252	196,35	2,131	16,81	0,20 0	0,421	24,84
96	6,15E+0 5	3,50E+ 05	16,80	1,0689	3,3066	179,58	3,012	23,77	0,24 8	0,419	35,29
108	1,05E+0 6	4,55E+ 05	16,80	1,0689	3,3066	179,58	3,012	23,77	0,22 0	0,419	35,29
120	1,53E+0 6	9,50E+ 05	15,97	1,0653	3,7882	170,13	3,494	27,57	0,23 0	0,417	41,18
132	9,50E+0 5	5,70E+ 05	14,67	1,0597	4,5469	155,46	4,253	33,55	0,25 4	0,415	50,33
144	1,71E+0 6	1,06E+ 06	14,02	1,0569	4,9208	148,18	4,627	36,50	0,25 3	0,414	54,90
156	1,54E+0 6	1,03E+ 06	13,03	1,0527	5,4751	137,17	5,181	40,88	0,26 2	0,412	61,76
168	7,20E+0 5	4,40E+ 05	12,05	1,0486	6,0214	126,36	5,727	45,19	0,26 9	0,411	68,46
180	6,75E+0 5	4,50E+ 05	11,05	1,0444	6,5599	115,41	6,266	49,44	0,27 5	0,409	75,33

---