



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E
SENSORIAL DA CERVEJA RECUPERADA
MEDIANTE PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO
DO FUNDO DE DORNA DE MATURAÇÃO**

Paula Carvalho Correa

Belo Horizonte-MG

2015



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E
SENSORIAL DA CERVEJA RECUPERADA
MEDIANTE PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO
DO FUNDO DE DORNA DE MATURAÇÃO**

Paula Carvalho Correa

Monografia apresentada ao Curso de Química Tecnológica do CEFET-MG como parte das exigências da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC II).

Orientadora: Prof^a. Dra. Luzia Sergina de França Neta (CEFET-MG)

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Ana Maria de Resende Machado (CEFET-MG)

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Luzia Sergina de França Neta (orientadora)

Prof^a. Dra. Ana Maria de Resende Machado (co-orientadora)

Prof. Dr. Patterson Patricio de Souza (CEFET-MG)

Profa Dra. Flávia Augusta Guilherme Gonçalves Rezende (CEFET-MG)

Monografia aprovada em 26 de Janeiro 2015

**Belo Horizonte-MG
2015**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, aos meus pais Lúcia e Paulo, que com apoio e amor incondicional me ensinaram a ter caráter, ética e honestidade. Além disso me proporcionaram educação de qualidade, contribuíram diretamente para minha formação acadêmica e desenvolvimento do trabalho de conclusão de curso.

Aos meus irmãos Daniela e Bruno, pela amizade e pelos momentos de descontração que sempre me trouxeram energia positiva e ânimo .

Às minhas amigas, Mariana Mendonça, Marina Rabelo e Raquel Fonseca, pelo companheirismo durante todo o curso. Agradeço especialmente à Gabriele Cardoso que participou diretamente da execução deste trabalho.

Às minhas orientadoras Prof^a. Dra. Luzia Sergina de França Neta e Profa. Dra. Ana Maria de Resende Machado, pela dedicação a este trabalho, pela oportunidade de compartilhar deste projeto de pesquisa, me proporcionando trocas de experiências, orientações e enorme aprendizado profissional.

Aos colegas de trabalho do Laboratório de Cromatografia do CEFET-MG, pelas parcerias estabelecidas e pelo aprendizado.

Aos amigos da Cervejaria Inconfidentes, especialmente ao Humberto Mendes Neto, pela oportunidade de estágio, aprendizado e pela confiança na parceria durante o trabalho de conclusão de curso.

Agradeço ainda a todos os professores do Departamento de Química do CEFET-MG que me forneceram conhecimentos e informações para realização do trabalho de conclusão do curso.

Ao Prof. Dr. Ildefonso Binatti, às colegas de trabalho Sâmara de Souza e Natália Fernandes, pela colaboração na realização das análises instrumentais.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i> (Refletância Total Atenuada)
CEFET-MG	Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais
CW	Carbowax
CW/DVB	Carbowax/divinilbenzeno
EBC	<i>European Brewery Convention</i> (Convenção Européia para Cerveja)
FCP	<i>Free Choice Profile</i> - Perfil Livre
FP	Perfil Flash
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i> (Infravermelho com Transformada de Fourier)
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Cromatografia Gasosa,CG)
GC-MS	<i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, CG-EM)
GPA	<i>Generalized Analise Procrustes</i> (Análise de Procrustes Generalizada)
HPLC	<i>High Performacy Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, CLAE)
KG	<i>Kieselguhr</i> (Terra diatomácea)
MF	<i>Microfiltration</i> (Microfiltração)
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i> (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia)
NTU	<i>Nephelometric Turbidity Unit</i> (Unidade de Turbidez Nefelométrica)
PA	Poliacrilato
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB	Polidimetilsiloxano/divinilbenzeno
PEI	Poli (éter imida)
PSM	Processo de Separação por Membrana
PVP	Polivinilpirrolidona
SI	Sistema Internacional
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i> (Microextração em Fase Sólida)

UFC

Unidade Formadora de Colônia

VDK

Vicinal Diketones (Dicetonas Vicinais)

LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS

Figura 1: Representação da molécula de amido com indicação das ligações alfa 1,4 e alfa 1,6. Fonte: AQUARONE (2001).....	3
Figura 2: Tanque de fermentação/maturação cilindro-cônico.....	6
Figura 3: Fluxograma do processo produtivo da cerveja	9
Figura 4: Esquema de separação de moléculas por microfiltração. Adaptado de FRANÇA NETA (2005).	11
Figura 5: Esquema de separação por membranas porosas e densas. Adaptado de SILVA (2011).	11
Figura 6: Modos de operação do sistema de MF: (a) filtração frontal ("dead end filtration"), (b) filtração tangencial ("cross flow filtration"). Adaptado de FRANÇA NETA (2005).	13
Figura 7: Etapas da reação de Mailard para formação da melanoidina. FONTE: GAVA et. al (2008).....	17
Figura 8: Alfa-ácidos e Beta-ácidos presentes no lúpulo. Adaptado de ALMEIDA (2006).....	18
Figura 9: Reação de isomerização térmica das humulonas à cis e trans-isohumulonas. A relação trans/cis-isohumulonas em condições normais de fabricação da cerveja é de 32:68. FONTE: Adaptado de SILVA e FARIA (2008).	19
Figura 10: Reações de formação de ésteres (1 - acetato de etila, 2 - acetato de isoamila). Fonte: SOLOMONS (2009).....	19
Figura 11: Aplicação da Transformada de Fourier em um interferograma. À esquerda medida em função da posição do espelho, à direita medida em função do número de onda. Fonte: ESTRACANHOLLI (2012).	23
Figura 12: (a) Seção transversal da membrana de microfiltração e (b) distribuição dos poros na superfície da membrana de microifltração. Fonte: França Neta (2005).....	28
Figura 13: Turbidímetro Analógico DEL DLA1000/II - Departamento de Química/CEFET-MG.....	29
Figura 14: Vista lateral de um dos módulos de permeação.....	34
Figura 15: Seção transversal dos módulos de permeação.	34
Figura 16: Esquema do sistema de microfiltração de cerveja.....	35

Figura 17: Amostrador de SPME para extração e dessorção de analitos para análise por cromatografia gasosa. FONTE: Adaptado de MORÉS (2009)....	37
Figura 18: Compactação isobárica dos módulos.	39
Figura 19: Determinação da Permeabilidade Hidráulica dos Módulos	40
Figura 20: Permeabilidade das Cevejas Durante Microfiltração.....	41
Figura 21: Saída do permeado do módulo de microfiltração, evidenciando formação de incrustações.	42
Figura 22: À esquerda <i>Belgian Dark Strong</i> (esquerda purga, direita permeado), à direita filtração de <i>Blondie</i> (esquerda permeado, direita purga).....	43
Figura 23: À esquerda filtração de Baba ESB 1 (esquerda permeado, direita purga), ao centro filtração de Baba ESB 2 (esquerda permeado, direita purga), à direita Baba ESB 3 (esquerda permeado, direita purga).....	44
Figura 24: Espectros obtidos na região do infravermelho – ATR-FTIR – para as amostras de BABA 1 comercial (R) e filtrados (F), sobrepostos.....	48
Figura 25: Espectro dos padrões de etanol, maltose e dextrinas. Fonte: DUARTE (2003).	49
Figura 26: Espectros aproximados na região de impressão digital, do infravermelho – ATR-FTIR – para as amostras de BABA 1 comercial (R) e filtrado (F), sobrepostos.	50
Figura 27: Cromatograma da cerveja <i>Blondie</i> Filtrada	51
Figura 28: Cromatograma da cerveja <i>Blondie</i> Comercial	52
Figura 29: Cromatograma ampliado da cerveja <i>Blondie</i> na região de identificação do composto 9-decenoato de etila. Em vermelho o cromatograma da cerveja comercial, em preto e azul as replicatas das amostras filtradas.....	53
Figura 30: Cromatograma ampliado da cerveja <i>Blondie</i> na região de identificação do composto Cariofileno. Em vermelho o cromatograma da cerveja comercial, em preto e azul as replicatas das amostras filtradas. ...	54
Figura 31: Cromatograma ampliado da cerveja <i>Blondie</i> na região de identificação do composto Nerolidol. Em vermelho o cromatograma da cerveja comercial, em preto e azul as replicatas das amostras filtradas. ...	54
Figura 32: Cromatograma ampliado da cerveja BABA ESB na região de identificação do composto Hexilato de etila. Em preto o cromatograma da	

cerveja comercial, em azul, vermelho e verde as amostras filtradas de BABA 1, 2 e 3.	55
Figura 33: Cromatograma ampliado da cerveja BABA ESB na região de identificação do composto Cariofileno. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul, vermelho e verde as amostras filtradas de BABA 1, 2 e 3.	55
Figura 34: Cromatograma ampliado da cerveja <i>DARK STRONG</i> na região de identificação do composto Cariofileno. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul e vermelho as replicatas da amostra filtradas de <i>Dark Strong</i>	56
Figura 35: Cromatograma ampliado da cerveja <i>DARK STRONG</i> na região de identificação do composto (Z)-5-Pentadecen-7-ina. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul e vermelho as replicatas da amostra filtradas de <i>Dark Strong</i>	56
Figura 36: Cromatograma ampliado da cerveja <i>DARK STRONG</i> na região de identificação do composto 1-Tetradecanol. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul e vermelho as replicatas da amostra filtradas de <i>Dark Strong</i>	56
Figura 37: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 2.	68
Figura 38: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 2 na região de impressão digital.	68
Figura 39: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 3.	69
Figura 40: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 3 na região de impressão digital.	69
Figura 41: Sobreposição dos Espectros de FTIR Blondie.	70
Figura 42: Sobreposição dos Espectros de FTIR Blondie na região de impressão digital.	70
Figura 43: Sobreposição dos Espectros de FTIR Dark Strong.	71
Figura 44: Sobreposição dos Espectros de FTIR Dark Strong na região de impressão digital.	71
Figura 45: Cromatograma do Padrão de Hidrocarbonetos.	72
Figura 46: Gráfico do tempo de retenção pelo <i>kovats</i> do padrão de hidrocarbonetos.	73
Figura 48: Cromatograma da Blondie Filtrada replicata 1.	74

Figura 49: Cromatograma da Blondie Filtrada replicata 2.....	74
Figura 50: Cromatograma da Blondie Comercial replicata 1.....	75
Figura 51: Cromatograma da Blondie Comercial replicata 2.....	75
Figura 52: Cromatograma BABA ESB 1 replicata 1.	76
Figura 53: Cromatograma BABA ESB 1 replicata 2.	76
Figura 54: Cromatograma BABA ESB 2 replicata 1.	77
Figura 55: Cromatograma BABA ESB 2 replicata 2.	77
Figura 56: Cromatograma BABA ESB 3 replicata 1.	78
Figura 57: Cromatograma BABA ESB 3 replicata 2.	78
Figura 58: Cromatograma BABA ESB comercial replicata 1.....	79
Figura 59: Cromatograma BABA ESB comercial replicata 2.....	79
Figura 60: Cromatograma Dark strong filtrada replicata 1.....	80
Figura 61: Cromatograma Dark strong filtrada replicata 2.....	80
Figura 62: Cromatograma Dark Strong comercial replicata 1.....	81
Figura 63: Cromatograma Dark Strong comercial replicata 2.....	81
Figura 64: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 1.	82
Figura 65: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 2.	82
Figura 66: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 3.	82
Figura 67: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 4.	83
Figura 68: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 5.	83
Figura 69: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 6.	83
Figura 70: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 7.	84
Figura 71: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 8.	84
Figura 72: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 1.	84
Figura 73: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 2.	85
Figura 74: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 3.	85
Figura 75: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 4.	85
Figura 76: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 5.	86
Figura 77: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 6.	86
Figura 78: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 7.	86
Figura 79: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 8.	87
Figura 80: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 9.	87
Figura 81: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 10. ..	87
Figura 82: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 1. ..	88

Figura 83: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 2. ...	88
Figura 84: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 3. ...	88
Figura 85: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 4. ...	89
Figura 86: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 5. ...	89
Figura 87: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 6. ...	89
Figura 88: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 7. ...	90
Figura 89: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 8. ...	90
Figura 90: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 9. ...	90
Figura 91: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 1. ...	91
Figura 92: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 2. ...	91
Figura 93: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 3. ...	91
Figura 94: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 4. ...	92
Figura 95: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 5. ...	92
Figura 96: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 6. ...	92
Figura 97: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 7. ...	93
Figura 98: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 8. ...	93
Figura 99: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 9. ...	93
Figura 100: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 10.	94
Figura 101: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 1. ...	94
Figura 102: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 2. ...	94
Figura 103: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 3. ...	95
Figura 104: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 4. ...	95
Figura 105: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 5. ...	95
Figura 106: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 6. ...	96
Figura 107: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 7. ...	96
Figura 108: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 8. ...	96
Figura 109: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 9. ...	97
Figura 110: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 10.	97
Figura 111: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 11.	97

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1: Compostos da cerveja e sua percepção sensorial.....	22
Tabela 2: Absorção de grupos funcionais na região do Infravermelho médio.	24
Tabela 3: Cálculos relativos ao sistema operacional da microfiltração	33
Tabela 4: Registro das amostras de cerveja	32
Tabela 5: Redução do Fluxo Permeado em Função das Cervejas.	42
Tabela 6: Redução da Permeabilidade Hidráulica.	44
Tabela 7: Medidas de Turbidez e Comparação da Redução Percentual	46
Tabela 8: Teor de Sólidos e Redução Percentual do Filtrado	47
Tabela 9: Resumo dos compostos ausentes nas cervejas filtradas.....	57
Tabela 10: Dados resumidos do cromatograma do padrão de hidrocarbonetos.....	72
Tabela 11: Identificação dos compostos Blondie Comercial	98
Tabela 12: Identificação do Compostos Blondie filtrada	99
Tabela 13: Identificação dos compostos BABA ESB Comercial.....	100
Tabela 14: Identificação dos compostos BABA ESB 1 filtrada	102
Tabela 15: Identificação dos compostos BABA ESB 2 filtrada	104
Tabela 16: Identificação dos compostos BABA ESB 3 filtrada	105
Tabela 17: Identificação dos compostos Dark Strong Comercial.....	107
Tabela 18: Identificação dos compostos Dark Strong Filtrada	108
Quadro 1: Compostos responsáveis pela formação de espuma na cerveja.	15

RESUMO

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE QUÍMICA E SENSORIAL DA CERVEJA RECUPERADA MEDIANTE PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO DO FUNDO DE DORNA DE MATURAÇÃO

CORREA, P. C.; FRANÇA NETA, L. S.; MACHADO, A. M. R.

O presente trabalho avalia a recuperação da cerveja de fundo de dorna de maturação aplicando o processo de microfiltração por membrana. A microfiltração surge com a proposta de eliminar microrganismos, reduzir a turbidez e a concentração de sólidos suspensos presentes na cerveja maturada, e com isso substituir eficientemente mais de uma etapa de processo de produção (filtração e pasteurização). Foram avaliadas amostras de 3 tipos de cerveja provenientes do processo de purga, para fins de comparação, foram consideradas a purga, a amostra microfiltrada e a referência comercial. Para estimar a eficiência do processo foi realizado um estudo aprofundado das amostras, em que foram avaliadas características físico-químicas: extrato seco e turbidez, composição por meio de análises instrumentais com tratamento prévio da amostra por SPME com GC-MS e FTIR, além da realização de análise sensorial. As análises por FTIR não identificaram qualquer alteração nas cervejas na região de impressão digital. Enquanto as análises por SPME e GC-MS detectaram a ausência de sete compostos nas cervejas filtradas comparada com a amostra de referência. Além de detectados, também, compostos diferentes das cervejas comerciais nas cervejas microfiltradas. A análise sensorial comprovou o aprimoramento da cor, translucidez e brilho da cerveja, além de alguns aromas terem sido intensificados devido à ausência de interferentes provenientes das leveduras e sólidos suspensos. Não foram detectados compostos provenientes do contato prolongado com as leveduras. Foi confirmada a retenção de compostos indesejáveis e causadores da turbidez, melhorando as características visuais da cerveja e garantindo a presença dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor da bebida.

Palavras-chave: microfiltração, cerveja, processos químicos, análise sensorial, SPME-GC-MS, FTIR.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Processo Produtivo da Cerveja	3
2.1.1. Maltagem	3
2.1.2. Secagem	4
2.1.3. Moagem	4
2.1.4. Mosturação ou Brassagem	5
2.1.5. Fermentação	5
2.1.6. Maturação	7
2.1.7. Estabilização e Filtração	7
2.2. Processos de Separação por Membrana (PSM) na Filtração da Cerveja	10
2.3. Componentes da Cerveja.....	14
2.4. Análise Sensorial	20
2.5. Análise Instrumental.....	23
2.5.1. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ..	23
2.5.2. Microextração em Fase Sólida (SPME).....	25
2.5.3. Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas GC-MS	26
3. PARTE EXPERIMENTAL	28
3.1. Materiais e Reagentes	28
3.1.1. Reagentes	28
3.1.2. Membrana de microfiltração.....	28
3.1.3. Módulo de permeação	28
3.1.4. Sistema de microfiltração	28
3.2. Técnicas Experimentais e Instrumentos.....	29
3.2.1. Determinação da Turbidez	29
3.2.2. Determinação do Extrato Seco	29
3.2.3. FTIR	30
3.2.4. SPME	30
3.2.5. GC-MS	30
3.3. Procedimentos	30
3.3.1. Sanitização	30

3.3.2. Amostras para Microfiltração.....	30
3.3.3. Coleta e Armazenamento das Amostras	32
3.3.4. Módulo de Permeação	33
3.3.5. Sistema de Microfiltração	34
3.3.6. Análises Físico-Químicas.....	35
3.3.7. Análises Químicas	36
3.3.8. Análise Sensorial.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1. Caracterização dos Módulos de Permeação	39
4.2. Recuperação do Fundo de Dorna de Maturação	40
4.3. Eficiência da Limpeza dos módulos de permeação.....	44
4.4. Análises Físico-Químicas.....	45
4.4.1. Turbidez.....	45
4.4.2. Determinação do Extrato Seco	46
4.5. Análises Químicas instrumentais.....	48
4.5.1. FTIR	48
4.5.2. GC-MS	50
4.6. Análise Sensorial	58
4.6.1. BABA ESB 1, 2 e 3.....	59
4.6.2. Belgian Dark Strong	59
4.6.3. Blondie	59
CONCLUSÃO	61
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXO I – Espectros FTIR	68
ANEXO II – Cálculo do <i>Kovats</i>	72
ANEXO III – Cromatogramas.....	74
ANEXO IV – Comparação dos Cromatogramas.....	82
ANEXO V – Identificação dos Compostos.....	98

1. INTRODUÇÃO

A cerveja participa da história da sociedade mundial, é fabricada desde 6.000 anos antes de Cristo. Os primeiros registros de regulamentação do produto para a comercialização são de 1.700 a.C. no Código de Hammurabi na Mesopotâmia (TROMMER, 2014).

No século XX houve um aumento significativo de produção, tornando necessário a padronização e o barateamento do processo. Aumentou-se, então, a durabilidade da cerveja com processos de filtração e pasteurização e o sabor foi equiparado à satisfação da média da população (TROMMER, 2014).

A cerveja artesanal propõe resgatar a qualidade perdida nos processos industriais de grande volume de produção, utilizando-se de ingredientes puros e variedade de receitas (LAMÊGO, 2014).

Hoje o mercado brasileiro vive uma intensa busca pelas cervejas diferenciadas. Minas Gerais se apresenta como segundo maior Estado em volume de produção, com 1.100.000 L por mês, e com cerca de 25 microcervejarias e com um crescimento médio de faturamento de 21 % ao ano. Fatos associados ao aumento da renda da população (LAMÊGO, 2014).

As microcervejarias enfrentam dificuldades devido à falta de equipamentos, economicamente viáveis, em pequena escala, que possibilitem o aproveitamento de toda a produção. Além disso, os custos para o processo produtivo em pequena escala são mais dispendiosos quando comparado às indústrias de grande porte, devido às perdas inerentes envolvidas no processo produtivo tomarem proporções significativas no orçamento.

As etapas de fermentação e maturação envolvem as maiores perdas, isso porque a decantação de leveduras e sólidos na dorna de maturação torna necessária a remoção de parte da cerveja. Esse processo, denominado purga, é ideal para garantir a qualidade do produto. Entretanto, pode resultar em uma perda de 5 % da produção.

Os processos de separação por membrana (PSM), especificamente a microfiltração (MF), têm sido amplamente utilizados na indústria alimentícia

como alternativa ao processo convencional de filtração. O processo de microfiltração garante a estabilidade microbiológica da cerveja podendo ser um substituinte à pasteurização.

Para a substituição do processo de filtração convencional ou a introdução da microfiltração na recuperação do fundo de dorna de maturação, é necessário garantir efetividade na separação e estabilização microbiológica, preservar a qualidade química e físico-química da cerveja, bem como características organolépticas, retendo compostos indesejáveis ou causadores da turbidez, e permitindo a passagem dos compostos essenciais às características aromáticas.

Diante deste contexto, pretendeu-se investigar a aplicação do processo de microfiltração na recuperação da cervejade fundo de dorna de maturação visando o reaproveitamento da fração descartada durante o processo produtivo. Assim como a qualidade final da cerveja recuperada a partir de compostos químicos que representam as principais características de cor, sabor, odor, qualidade físico-química, e relacionar com a qualidade sensorial.

Para avaliar a presença dos compostos químicos utilizou-se Cromatografia Gasosa com Detecção por Espectroscopia de Massas (*Gas Chromatography - Mass Spectrometry*, GC-MS) e Espectrofotometria de Infravermelho com Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared*, FTIR). As análises físico-químicas foram realizadas para avaliar as características de turbidez e concentração de sólidos.

A análise sensorial foi realizada com o auxílio de degustadores treinados, produtores da cervejaria parceira, Cervejaria Inconfidentes, de modo a comparar a cerveja microfiltrada com o produto convencional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Processo Produtivo da Cerveja

Os diversos tipos de cerveja, com diferentes aromas, são provenientes de variações nas etapas do processo de produção da cerveja. A seguir serão descritas as etapas que envolvem tal processo.

2.1.1. Maltagem

A fabricação da cerveja inicia-se pela maltagem, que consiste na fase de germinação dos grãos de cevada, sendo responsável pelo aumento do conteúdo enzimático do grão, produzindo enzimas capazes de catalisar a transformação do amido em açúcares fermentescíveis (AQUARONE, 2001).

As α e β -amilases atacam as ligações α -1,4 da molécula de amido, fragmentando-a em cadeias menores de cinco a seis unidades de glicoses, denominadas dextrinas. A β -amilase tem a capacidade de preservar as ligações α -1,6, porém a carboidrase é responsável pelo rompimento das ligações α -1,6, como apresentado na Figura 1 (AQUARONE, 2001).

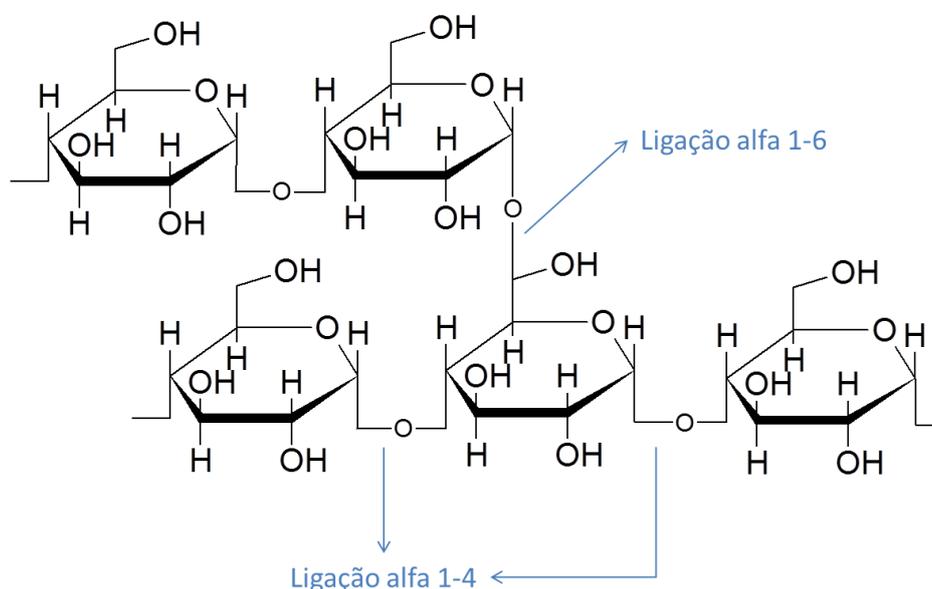


Figura 1: Representação da molécula de amido com indicação das ligações alfa 1,4 e alfa 1,6. Fonte: AQUARONE (2001).

As dextrinas que contêm ligações α -1,6 são importantes na consistência da cerveja, pois dão "corpo" à cerveja, além de estarem associadas aos aromas e sabores dos produtos. O uso adequado de temperaturas relacionadas à ativação das enzimas é fundamental para definir o tipo de cerveja produzida, com características de corpo leve ou denso (AQUARONE, 2001).

2.1.2. Secagem

Quando a plúmula, parte do embrião de onde se forma a haste do vegetal, atinge cerca de $\frac{3}{4}$ da dimensão do grão, o que acontece por volta do 8º dia de germinação, o processo é interrompido, e então se inicia a secagem do malte (AQUARONE, 2001).

A secagem ocorre primeiramente em um aquecimento gradativo de 20 a 70 °C, atingindo de 8 a 12 % de umidade. Posteriormente, ocorre a cura, onde a umidade se reduz para 4 a 5 %, com temperaturas entre 70 a 95 °C. (AQUARONE, 2001)

O malte claro necessita de temperaturas menos elevadas com remoção de umidade mais eficiente. Para o malte escuro utiliza-se altas temperaturas ainda com o teor de umidade elevado. Os maltes de coloração muito escura, com formação de caramelos necessitam de temperaturas entre 200 e 300 °C, destruindo totalmente as atividades enzimáticas. (AQUARONE, 2001)

Algumas das características de cor e aroma do malte são formadas durante a secagem por reações químicas proporcionadas pelas condições de alta temperatura. Origina-se uma série de aminoácidos e melanoidinas por meio de reações de Maillard (AQUARONE, 2001).

2.1.3. Moagem

A moagem do malte pode ser realizada com o grão seco ou úmido, de modo a preservar a qualidade do grão com formação de fragmentos de espessura controlada para evitar a dificuldade durante a filtragem (grãos muito finos) ou a hidrólise do amido (grãos maiores). Sua importância se deve à exposição do amido para atuação de enzimas durante a mosturação. (AQUARONE, 2001; ALMEIDA, 2006).

2.1.4. Mosturação ou Brassagem

A mosturação é um processo de transformação das matérias primas da cerveja em mosto. Mistura-se água e complementos ao malte. O objetivo dessa etapa é promover a digestão enzimática do amido, a partir do controle do pH e temperatura. Proporciona a quebra do malte em açúcares que serão fermentados por leveduras.. Pode ocorrer por meio de infusão ou decocção (AQUARONE, 2001).

Quando aplicadas temperaturas acima de 60 °C predominam-se componentes nitrogenados de alto peso molecular (peptídeos), importantes para estabilidade da espuma. Temperaturas mais baixas resultam em maior degradação do amido em sacarídeos. Em seguida, o mosto é filtrado, a fim de remover resíduos sólidos do malte (AQUARONE, 2001).

A etapa seguinte consiste na adição do lúpulo ou extrato de lúpulo e fervura a 100 °C por 2 h. Sua importância se deve por inativar amilases e proteases, causar coagulação das proteínas, além de produzir aromas (humulona e α -ácidos do lúpulo), concentrar, esterilizar e caramelizar alguns açúcares (AQUARONE, 2001; ALMEIDA, 2006).

É feita então a separação do mosto dos resíduos de lúpulo por decantação, centrifugação ou até filtração. Em seguida, é realizado um arrefecimento a uma temperatura de cerca de 7 °C, precipitando complexos de proteínas com resinas e taninos, o mosto então é aerado, fornecendo oxigênio para desenvolvimento das leveduras durante a fermentação (AQUARONE, 2001; ALMEIDA, 2006).

2.1.5. Fermentação

A fermentação é feita em ambiente controlado para que haja perfeito desenvolvimento das leveduras adicionadas. Por se tratar de um processo exotérmico, é necessário o uso de refrigeração, pequenos desvios na temperatura podem deslocar o processo da condição de operação ótima. Os açúcares são metabolizados em álcool e dióxido de carbono, este último pode ser retirado e armazenado para posterior retorno à cerveja na fase de acabamento (AQUARONE, 2001).

As cervejas *Ale*, são produzidas por fermentação alta (*top fermenting*), utilizando leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que flutuam na superfície da cerveja durante 3 a 4 dias. As temperaturas de fermentação são mais elevadas, entre 15 e 25 °C (SILVA, 2013).

As cervejas *Lager*, utilizam fermentação baixa (*bottom fermenting*), proveniente de leveduras da espécie *Saccharomyces uvarium*. Essas leveduras decantam e floculam após 5 a 8 dias de fermentação com temperaturas de 10 à 15 °C (SILVA, 2013).

Durante a fermentação o pH decresce de 5,2 para cerca de 4,0, sendo favorável ao desenvolvimento das leveduras. (AQUARONE, 2001).

Na grande maioria das indústrias, a fermentação é realizada por batelada em tanques cilindro-cônicos, onde permanece até ser filtrada. A Figura 2 apresenta um desenho esquemático do tanque envolvido nesta etapa (BOAVENTURA, 2009).

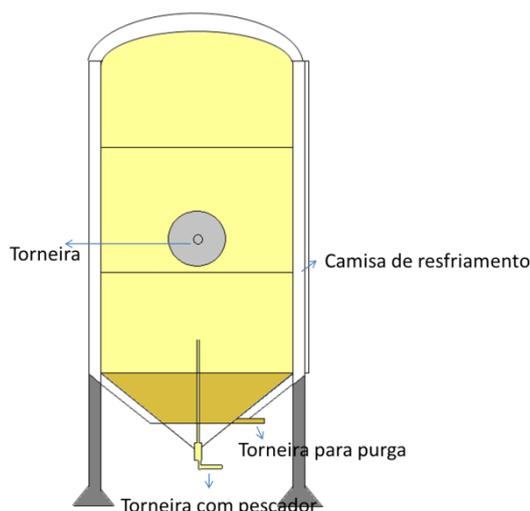


Figura 2: Tanque de fermentação/maturação cilindro-cônico.

Ao final da fermentação ocorre um decréscimo de temperatura, a cerveja, então, contém uma elevada concentração de levedura, no caso da cerveja do tipo *lager* as leveduras mortas floculam e decantam, na cerveja do tipo *ale* esse processo é feito adicionando-se um floculante para favorecer a decantação. É necessária a remoção desse precipitado para manter a qualidade da cerveja. Designa-se este processo por purga de

levedura. O sobrenadante é a cerveja "verde", sendo necessária sua maturação (BOAVENTURA, 2009).

A porção retirada no fundo de dorna possui alta concentração de sólidos, proveniente de resquícios de lúpulo, casca de malte, proteínas e leveduras. Representa cerca de 5 % do volume de produção. Estima-se que a purga de levedura contenha entre 90 e 99% de cerveja e, portanto, representa uma perda significativa. Os equipamentos utilizados para recuperação dessa porção incluem filtros a vácuo, filtros prensa e até centrífugas. Porém todo esse processo implica em grandes despesas, e os fabricantes de cerveja tendem a descartar o fundo de dorna no efluente, se sujeitando a multas (Le, 1987).

2.1.6. Maturação

Concluída a fermentação, a cerveja é resfriada a 0 °C, e tem início a maturação, que costuma levar de 6 a 30 dias. Ocorrem lentas fermentações, que promovem modificações de aroma e sabor, precipitando leveduras, proteínas e sólidos insolúveis para clarificação do produto. É durante a maturação que se forma grande parte dos ésteres (AQUARONE, 2001; SILVA, 2013).

Os objetivos principais da maturação são: aprimoramento do paladar e aroma, clarificação da cerveja, eliminação de substâncias sulfonadas que são arrastadas pelo gás carbônico (SILVA, 2013).

2.1.7. Estabilização e Filtração

A operação seguinte trata-se da estabilização da cerveja. Feita a temperaturas baixas, entre 4 e -2 °C, para o equilíbrio coloidal e aumento da solvatação do dióxido de carbono (ALMEIDA, 2006; BOAVENTURA, 2009).

O resfriamento favorece a formação de ligações intermoleculares entre proteínas, polifenóis e taninos, que somente se tornam insolúveis e se precipitam a baixas temperaturas. Uma vez que essas substâncias tenham sido precipitadas, são retiradas da cerveja no processo de filtração (SILVA, 2013).

O processo de filtração convencional utiliza a terra diatomácea, *Kieselguhr* (KG), uma rocha sedimentar formada a partir de plantas aquáticas unicelulares de tamanho microscópico. Possui extrema porosidade e boas propriedades filtrantes, é utilizada em processos em grande escala na indústria alimentícia (BOAVENTURA, 2009).

A filtração por KG pretende eliminar células de levedura, algumas proteínas, complexos proteína-polifenóis e outras substâncias em suspensão responsáveis por grande parte da turbidez da cerveja (BOAVENTURA, 2009).

O processo de filtração por terra diatomácea compreende várias etapas e tempo de processamento de 12 a 24 h, podendo ocorrer acúmulo de sólidos na superfície, o que reduz o fluxo de permeado, sendo necessário parar o ciclo para limpeza do equipamento. Para superar esse fenômeno pode ser adicionado KG na cerveja durante o ciclo. Assim, os sólidos suspensos na cerveja não filtrada ficam retidos no interior dos poros desse material (BOAVENTURA, 2009; CANCELLARA, 2004).

Ao final da filtração a contagem de leveduras deve ser menor que 10 unidades formadoras de colônias (UFC) por 100 mL de cerveja. Esta então é mantida em dorna por 24 h antes de ser envasada (AQUARONE, 2001).

A terra diatomácea tem-se tornado um problema biológico para as indústrias de cerveja. É geradora de um resíduo de 20 a 30 g de KG por litro de bebida produzida, um total de milhares de toneladas por ano (TAYLOR *et al.*, 2001).

Enfim, a cerveja é acondicionada em latas ou garrafas e esterilizada por meio de pasteurização. Neste processo a temperatura deve ser elevada a cerca de 60 °C e mantida por período suficiente para a morte de microrganismos. Embora afete o sabor da cerveja, ainda é um processo comum nas indústrias (AQUARONE, 2001).

A Figura 3 (p. 9) representa um fluxograma completo do processo de produção da cerveja.

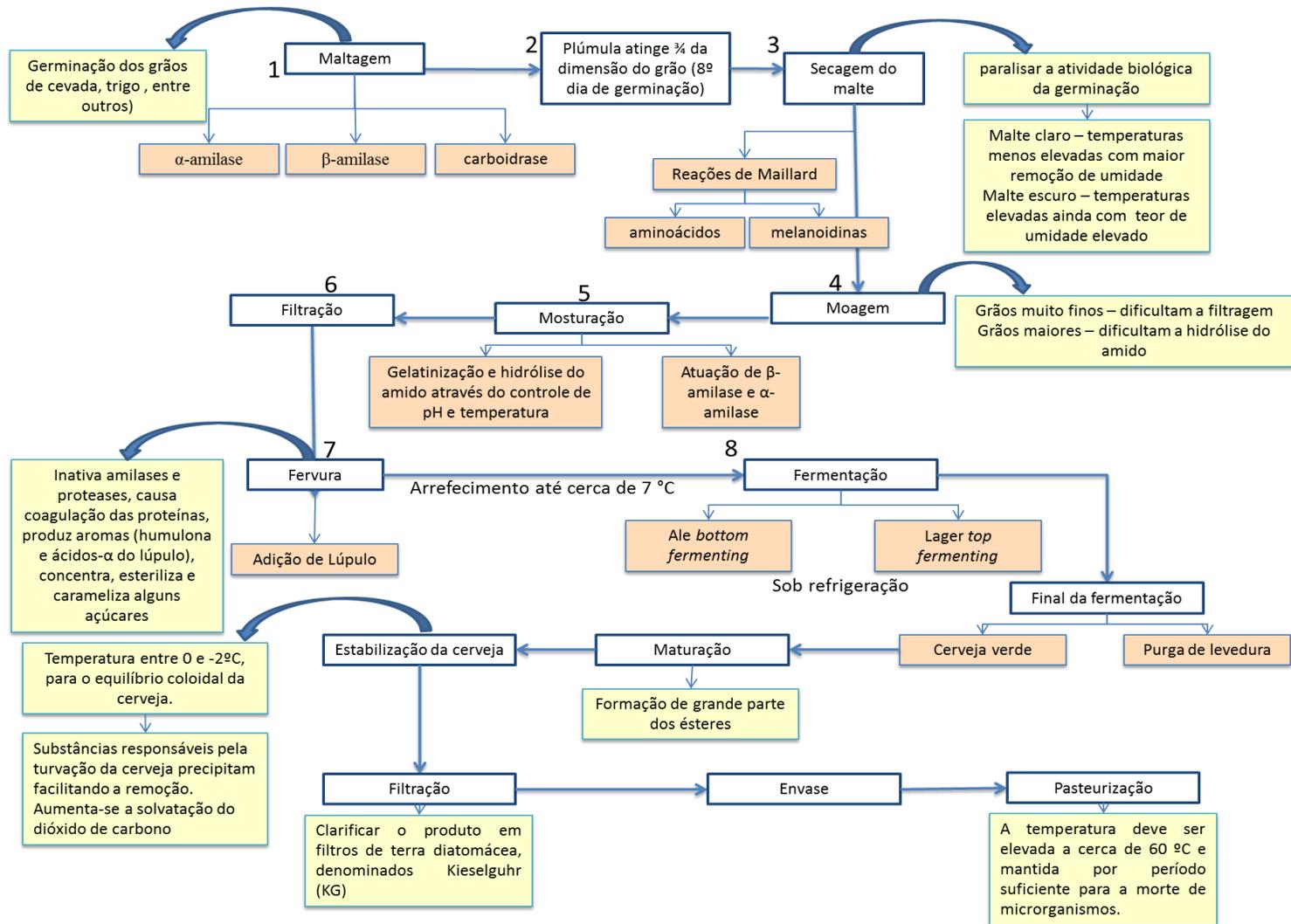


Figura 3: Fluxograma do processo produtivo da cerveja

2.2. Processos de Separação por Membrana (PSM) na Filtração da Cerveja

Os Processos de Separação por Membrana (PSM) surgiram como uma alternativa aos processos de filtração convencional na indústria alimentícia. O PSM consiste na implantação de uma barreira seletiva, que sob uma força motriz impede a passagem de determinados compostos. O líquido que permeia a membrana é denominado fluxo permeado e o retido é denominado concentrado (MULDER, 1996; SCHNEIDER e TSUTIYA, 2001).

As membranas são classificadas de acordo com a força motriz que necessitam para realizar a separação. As mais comumente utilizadas na indústria alimentícia têm como força motriz a aplicação do diferencial de pressão no sistema, entre elas a osmose inversa, microfiltração, ultrafiltração, e nanofiltração (MULDER, 1996; STRATHMANN, 2001).

A microfiltração (MF) utiliza pressão entre 0,5 e 2 bar e é utilizada em esterilização bacteriana, clarificação de vinhos e cervejas, concentração de células e oxigenação de sangue. Enquanto a ultrafiltração, com pressões entre 1 e 7 bar, é utilizada para fracionamento e concentração de proteínas, recuperação de pigmentos e óleos. A nanofiltração, utiliza pressões entre 5 e 25 bar, é aplicada para purificação de enzimas, biorreatores à membrana, recuperação de aminoácidos e filtração estéril. A osmose inversa, com pressões entre 15 e 80 bar, é utilizada para dessalinização de água, concentração de sucos de fruta e desmineralização de água.

A variação de pressão se deve também à dimensão dos seus poros. A MF é tipicamente usada para separar ou remover partículas relativamente grandes, tais como sólidos suspensos e óleos emulsificados, por meio de membranas com tamanho de poro da ordem de 0,05 a 10 μm , como mostrado na Figura 4 (p. 11) (MULDER, 1996; STRATHMANN, 2001).

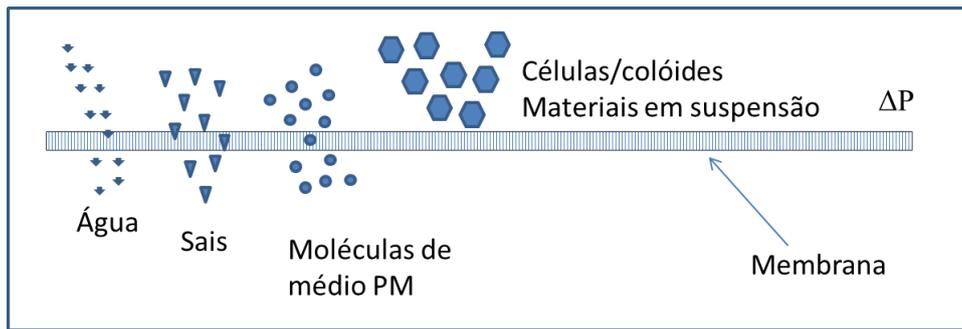


Figura 4: Esquema de separação de moléculas por microfiltração. Adaptado de FRANÇA NETA (2005).

As membranas sintéticas densas ou porosas são obtidas a partir de polímeros, cerâmicas ou metais. Podem ser fabricadas planas ou cilíndricas, sendo que estas podem ser tubulares, capilares ou de fibra oca. A permeabilidade de um composto através da membrana é dependente da interação físico-química e sua mobilidade na matriz que a compõe (MULDER, 1996; STRATHMANN, 2001).

Nos processos que utilizam membranas porosas, a seletividade é baseada na exclusão por tamanho da espécie pelos poros da membrana. Já em membranas densas, a permeabilidade depende da afinidade das espécies com o material da membrana e da difusão das mesmas, como mostrado na Figura 5 (FRANÇA NETA, 2005).

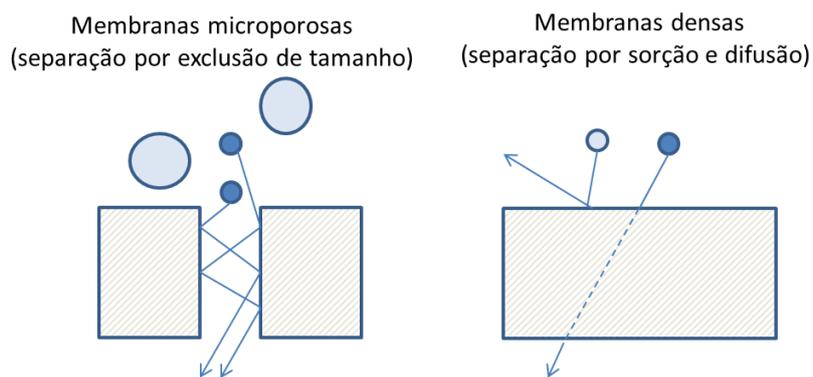


Figura 5: Esquema de separação por membranas porosas e densas. Adaptado de SILVA (2011).

A principal limitação do PSM se deve à diminuição do fluxo permeado devido às incrustações (*fouling*) que é um fenômeno inerente a

esses processos de separação. Isto diminui o desempenho da filtração, aumenta o consumo de energia exigindo limpeza constante ou até substituição das membranas aumentando, assim, o custo operacional (YAZDANSHENASA, 2010).

A filtração da cerveja deve ser realizada a baixas temperaturas para favorecer a formação de pontes hidrogênio que ocorre em proteínas e polifenóis. Essa interação provoca uma mudança da conformação desses compostos e causa a turbidez, porém quanto mais baixa a temperatura da cerveja, maior a viscosidade e menor o fluxo permeado (YAZDANSHENASA, 2010).

O fluxo permeado através das membranas é descrito pela Lei de Darcy (equação 1), segundo a qual é diretamente proporcional à diferença de pressão aplicada através da membrana:

$$J = A.\Delta P \quad (1)$$

onde "A" é a permeabilidade hidráulica da membrana, determinada pelas características morfológicas da mesma e pelas características reológicas do fluido. " ΔP " é a diferença de pressão através da membrana (FRANÇA NETA, 2005).

O sistema de microfiltração pode ser operado de duas formas, a primeira com fluxo perpendicular à membrana (*dead end filtration*) e a segunda com alimentação tangencial (*cross flow filtration*), como apresentado na Figura 6 (p. 13). Esta última diminui o acúmulo de partículas e a formação da torta devido à tensão de cisalhamento (FRANÇA NETA, 2005).

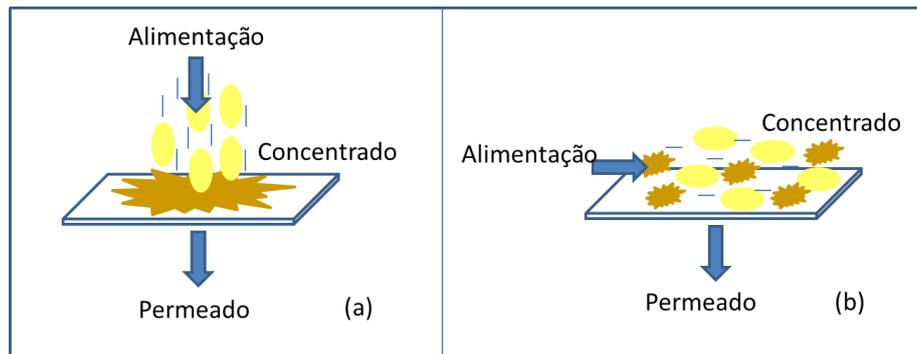


Figura 6: Modos de operação do sistema de MF: (a) filtração frontal ("dead end filtration"), (b) filtração tangencial ("cross flow filtration"). Adaptado de FRANÇA NETA (2005).

Na substituição das etapas de filtração convencionais por PSM são encontradas diversas vantagens: diminuição do tempo de processamento de 36 horas para 4 horas; aumento do rendimento da produção de 94 % para 99 %, pela redução das perdas relacionadas a agentes finalizadores e auxiliares de filtração (terra diatomácea); eliminação de filtros auxiliares, redução de custo e tempo de operação com eliminação das paradas para limpeza e o produto apresenta melhor qualidade devido à ausência da etapa de pasteurização (FRANÇA NETA, 2005).

A etapa de pasteurização é utilizada como um método de estabilização visa eliminar quaisquer tipos de agentes biológicos e micro-organismos presentes, com o objetivo principal de aumentar o seu tempo de prateleira e garantir a segurança alimentar. Entretanto, é um procedimento prejudicial às propriedades sensoriais da cerveja, uma vez que diversos compostos aromáticos em sua composição são extremamente sensíveis a altas temperaturas, mesmo em processos muito rápidos. A ausência deste processo promete garantir a conservação de características sensoriais da bebida (DOMINGUES, 2011).

Na prática, substituir o processo de filtração convencional e pasteurização ou introduzir a microfiltração na recuperação do fundo de dorna de maturação, só é aplicável se garantir efetividade na separação e estabilização microbiológica, operar a baixas temperaturas, preservar a qualidade química e físico-química da cerveja, bem como características organolépticas.

Segundo FRANÇA NETA *et al.* (2005) a aplicação das membranas de fibra oca é tecnicamente viável na indústria cervejeira. Essa técnica é capaz de reduzir o tempo de processamento, utilizando tecnologia limpa e isenta de resíduos, mantendo a qualidade da cerveja em relação às características físico-químicas, diminuindo os custos durante o processamento da cerveja.

ALICIEO (2008) atestou uma redução de 83,8% da turbidez da cerveja aplicando-se processo de microfiltração com membranas cerâmicas. BOAVENTURA (2009) constatou que o processo de microfiltração por membranas torna a etapa de filtração de cerveja menos poluente e com menor risco para a saúde dos operadores.

O fluxo permeado varia de acordo com a composição do meio filtrante, das condições de operação e do tipo de membrana conforme afirmam EL RAYESS *et al.* (2011). As incrustações variam com a interação intermolecular entre os compostos do meio filtrante e a membrana.

LE (1987) comprovou a viabilidade econômica da MF para recuperação do fundo de dorna de maturação. Os custos que envolvem o uso do PSM são provenientes da limpeza, com uma redução de, pelo menos, 50 % em relação aos processos convencionais.

2.3. Componentes da Cerveja

A cerveja consiste em uma matriz complexa, com aromas caracterizados por um ou mais compostos bem definidos, podendo haver sinergismo ou antagonismo entre as diversas substâncias presentes na bebida (ALMEIDA, 2006).

A espuma, a cor e a turbidez também são parâmetros com os quais se pode avaliar a qualidade da cerveja artesanal, e de grande estima para os apreciadores desse tipo de cerveja (ALMEIDA, 2006).

A espuma da cerveja é um sistema coloidal constituído de duas fases, uma gasosa descontínua e uma líquida contínua. Tem a função de isolar a cerveja do contato com o ar atmosférico, preservando as características e retendo o CO₂ (ALMEIDA, 2006).

Alguns compostos têm efeitos indesejáveis para a formação da espuma, outros, em espuma, outros, em combinação ou não, são essenciais para a sua estabilidade. A

estabilidade. A origem dos principais componentes da espuma da cerveja e sua sua função na mesma estão listados no

Quadro 1 (ALMEIDA, 2006).

Quadro 1: Compostos responsáveis pela formação de espuma na cerveja

Composto	Origem	Função
Polipeptídeos	Lúpulo	Amargor característico
α -iso Ácidos (hidrofóbicos), Ácidos em geral	Lúpulo	Amargor característico, separação da espuma, diminuir o pH e aumentar a estabilidade da espuma (maior hidrofobicidade, pode adsorver na interface)
Proteína Z (antígeno 1) – albumina, glicoproteína	Cevada	Estabilidade da espuma da cerveja (alta hidrofobicidade, ponto isoelétrico próximo do pH da cerveja, peculiar atividade viscométrica de superfície)
Proteínas de caráter anfipático – presença de região polar e apolar na mesma molécula (Glicosiladas não-enzimáticas, Glicoproteínas, Proteínas de elevado ponto iso- elétrico, Proteínas Hidrofóbicas)	Células da Levedura	Estabilidade da Espuma
Polissacarídeos (polares)	Malte	Associados a proteínas (glicoproteínas) formam regiões polares – Estabilidade da Espuma
Cátions metálicos	Malte ou água	Associados a ácidos iso- α – Estabilidade da Espuma
CO ₂ ou N ₂	Adicionados ou produzidos durante o processo	Componente gasoso da espuma

Fonte: Adaptado de SILVA e FARIA (2008), ALMEIDA, (2006).

A cor da cerveja distingue o método de produção e o tipo de cerveja, possibilitando uma melhor identificação do produto pelo consumidor.

A origem da cor pode ocorrer de quatro formas diferentes: reações de Maillard – presentes em todo o processo produtivo, são as principais fontes de coloração da cerveja –, a oxidação de polifenóis e do mosto, a interação com metais vestigiais como cobre e ferro que podem favorecer a

oxidação de compostos, e a riboflavina (vitamina B2 presente nas células da levedura). Esta última está relacionada à cor das cervejas tipo *pale lager* (leves e pálidas) é responsável pela cor original do levedo da cerveja (ALMEIDA, 2006).

A reação de Maillard é uma reação química entre um aminoácido ou proteína e um açúcar redutor (carboidrato), obtendo-se produtos que dão sabor, odor e cor aos alimentos. O grupo carbonila (C=O) do carboidrato interage com o grupo amino (-NH₂) do aminoácido ou proteína, e após várias etapas produz as melanoidinas, que dão a coloração amarronzada e aspecto característicos dos alimentos cozidos ou assados, como mostra a Figura 7 (p. 17) (GAVA et. al, 2008).

A oxidação de polifenóis pode ser proveniente do contato do mosto com o oxigênio do ar durante excessiva agitação, na moagem do malte ou até na própria embalagem após a pasteurização. Também é favorecida a oxidação desses compostos pela presença de metais como cobre e ferro (ALMEIDA, 2006).

A turbidez da cerveja é uma característica natural, visto que a fabricação é baseada em etapas heterogêneas de extração – mistura malte e água sob aquecimento. Geralmente é causada por proteínas ricas em prolina e polifenóis que polimerizam. Esses compostos podem ser encontrados na forma de complexos proteínas-polifenóis. A presença de células de levedura pode também ser causadora da turvação (BOAVENTURA, 2009).

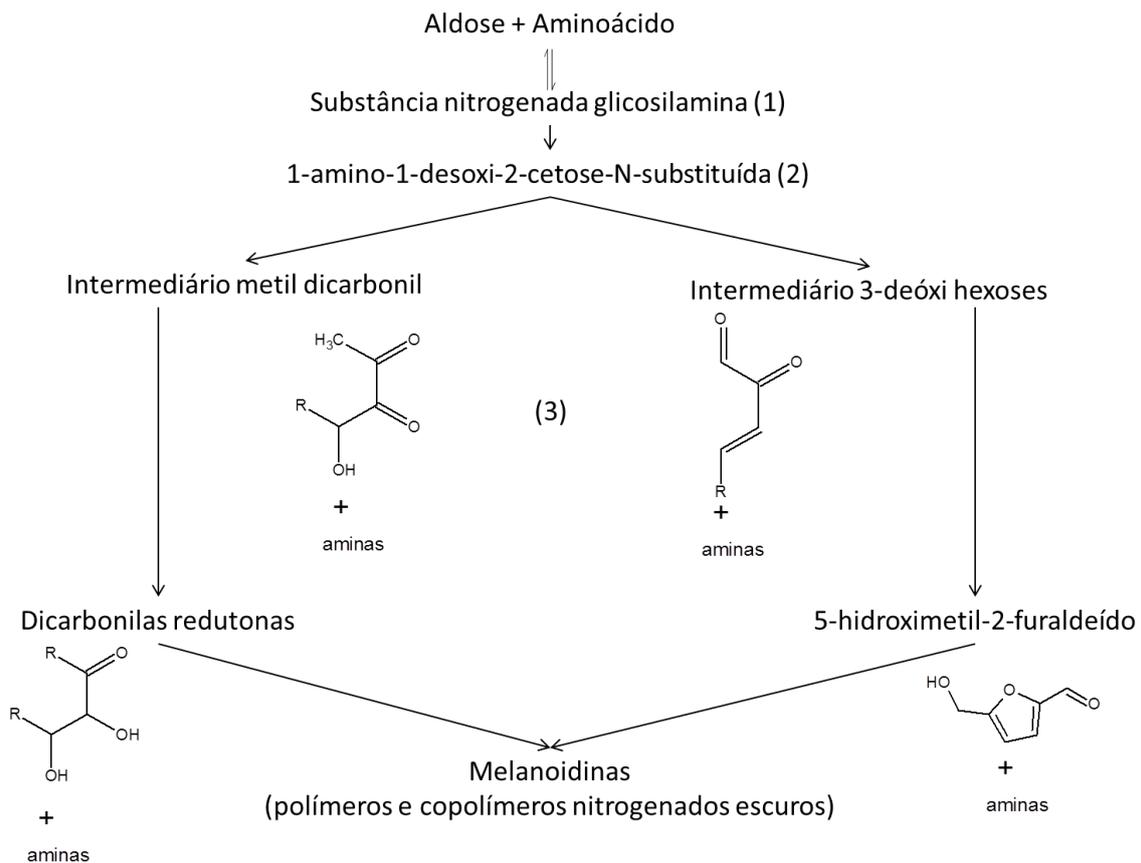


Figura 7: Etapas da reação de Mailard para formação da melanoidina. FONTE: GAVA et. al (2008)

O dióxido de carbono pode ser substituído por nitrogênio gasoso, reduzindo o impacto sensorial de alguns componentes e conferindo um aroma mais suave (ALMEIDA, 2006).

O sabor doce da cerveja é derivado de carboidratos que não foram fermentados durante o processo, originários do malte ou adicionados como *primers* para maior carbonatação através de fermentações secundárias. A maltotriose, trissacarídeo formado por três moléculas de glicose, tem maior concentração entre os carboidratos principais que compõe as cervejas (ALMEIDA, 2006).

A acidez é proveniente de ácidos orgânicos produzidos pela levedura. O ácido acético e o 3-metilbutanóico são os poucos que encontram-se em concentrações detectáveis pelo paladar humano (ALMEIDA, 2006).

O sabor salgado da cerveja se deve à presença de cátions e ânions inorgânicos. O sódio, cálcio, magnésio, cloro e sulfato, são originados principalmente da água utilizada, e confere sabores indesejáveis à cerveja. O potássio, oxalato, fosfato e nitrato, geralmente, são provenientes do malte ou lúpulo, e são essenciais a algumas características do produto (ALMEIDA, 2006).

O amargor é geralmente atribuído a um grupo de compostos denominados α -iso ácidos, responsáveis por cerca de 70% do amargor total detectado sensorialmente da cerveja. Os α -iso ácidos são isômeros dos α -ácidos, formados durante a ebulição do mosto, com eficiência de 30%. O aumento da concentração desses compostos ocorre devido à adição do lúpulo (ALMEIDA, 2006; SILVA e FARIA, 2008).

Os óleos essenciais do lúpulo possuem uma composição complexa, com mais de 200 compostos, e contribuem para o sabor diferenciado das cervejas com adição tardia de lúpulo (*late hopped beer*). Na composição do lúpulo estão presentes alfa e beta ácidos (Figura 8), importantes para as características de amargor e aroma da cerveja (SILVA e FARIA, 2008).

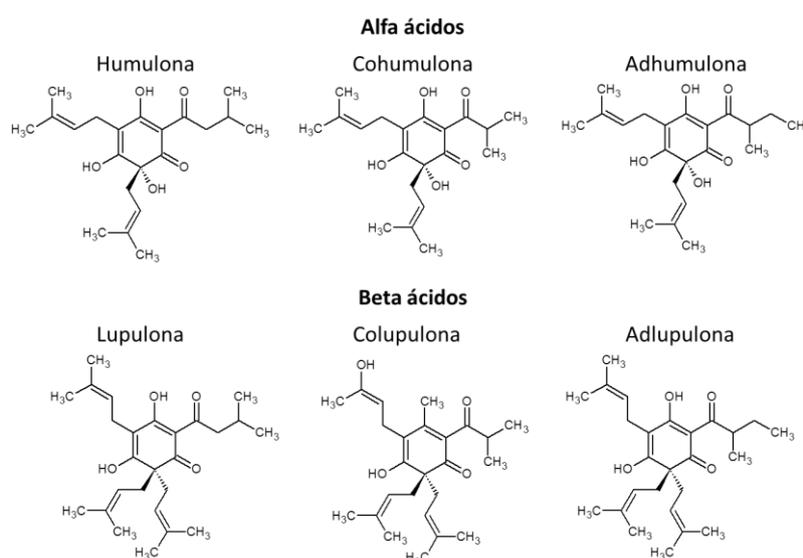


Figura 8: Alfa-ácidos e Beta-ácidos presentes no lúpulo. Adaptado de ALMEIDA (2006).

Os α -ácidos são isomerizados através do fornecimento de calor. Seus isômeros (Figura 9, p. 19) são constituídos por isohumulona,

crescimento celular das leveduras, e disponibiliza grupos ácidos para a reação, podendo resultar em níveis elevados de ésteres, e provocar sabores e aromas desagradáveis, comportando-se como *off-flavor* (ARAÚJO *et al.*, 2003).

Os álcoois superiores estão presentes nas cervejas em quantidades muito baixas, mas contribuem com um aroma de teor alcoólico, típico de bebida fermentada. Os principais álcoois superiores são n-propanol, isobutanol, 2-metil-1-butanol e o 3-metil-1-butanol. Esses compostos em níveis elevados diminuem a qualidade da espuma e causam anormalidades sensoriais (ARAÚJO *et al.*, 2003).

O etanol proporciona um caráter “quente” à bebida, além de influenciar na percepção e distribuição de outros componentes pelo líquido ou pela espuma. O glicerol é o segundo composto mais abundante, porém mais difícil de detectar sensorialmente (ALMEIDA, 2006).

As dicetonas vicinais (*vicinal diketones* – VDK) são cetonas com dois grupos carbonilas adjacentes, consideradas problemas ou defeitos nas bebidas, elas podem ser eliminadas pela elevada temperatura ao final da fermentação, ou por adição de enzimas (ALMEIDA, 2006).

A 2,3-butadiona, conhecida como diacetil, pode ser produzida durante a fermentação. Níveis elevados desta substância podem ter origem em problemas com a levedura na redução do diacetil, alto teor de aminoácidos e contaminação bacteriana quando os padrões de higiene são inadequados (SILVA, 2013).

A maior parte das características aromáticas da cerveja se devem aos compostos sulfurados. Devem ser evitados níveis elevados desses compostos, devido à possibilidade de eles causarem odores desagradáveis (ALMEIDA, 2006).

2.4. Análise Sensorial

A análise sensorial é uma disciplina científica para medir e analisar reações produzidas pelas características dos alimentos, bem como sua percepção pelos sentidos da visão, olfato, paladar e tato. Tem sido incorporada como fator chave para seleção de produtos na indústria alimentícia e de bebidas. Permite detectar problemas na produção,

contribuindo para melhoria do processo, analisar a qualidade do produto antes da liberação para o mercado e garantir harmonia entre compostos de acordo com a proposta do tipo de cerveja (SILVA, 2013).

Alguns compostos presentes na cerveja estão listados na Tabela 1 (p. 22) com os respectivos limites de percepção e aroma associado.

A análise descritiva qualitativa pelo método perfil livre (*Free-Choice Profiling* - FCP) foi desenvolvida por Williams e Langron em 1984, reconhecida por ser inovadora na condução de uma análise descritiva. No perfil livre ocorre uma avaliação individual pelos provadores com escala de intensidade e termos determinados pelo próprio avaliador. Deste modo, cada provador avalia as amostras utilizando seus próprios termos (DUTCOSKY, 2013)

O factor distintivo do FCP é que ele não impõe um vocabulário comum. Cada avaliador escolhe os termos descritivos que usará para avaliar o produto. Um mapa sensorial é construído a partir da avaliação de cada um, e, então, é obtido um mapa sensorial comum por tratamento estatístico dos dados de cada indivíduo utilizando a técnica de Análise de Procrustes Generalizada (*Generalized Analise Procrustes* - GPA) (DAIROU e SIEFFERMANN, 2002).

Perfil Flash (FP) é uma combinação original de seleção de termos de livre escolha, com um método de classificação com base na apresentação simultânea do conjunto de produtos. Permite uma melhor discriminação, fornecendo uma comparação direta das amostras. Enquanto a metodologia FCP precisa de sessões de treinamento individuais específicas, na FP o uso de escala ordinal é intuitivo (DAIROU e SIEFFERMANN, 2002).

Tabela 1: Compostos da cerveja e sua percepção sensorial

	Composto	Limite de percepção sensorial (mg/L)	Concentração na cerveja (mg/L)	Descrição do sabor/aroma
ÁCIDO	Acético	175	30-200	Ácido, vinagre
	Propanóico	150	1-5	Ácido, vinagre, leite
	Butanóico	2,2	0,5-1,5	Manteiga, queijo, suor
	2-metilpropanóico	30	0,1-2	Suor, amargo, azedo
	Pentanóico	8	0,03-0,1	Suor, odor corporal
	2-metilbutanóico	2,0	0,1-0,5	Queijo, lúpulo, suor
	3-metilbutanóico	1,5	0,1-2	-
	Octanóico	15	2-12	Cabra
	Láctico	400	20-80	Ácido
Éster	Pirúvico	300	15-150	Ácido, salgado, ração
	Succínico	-	16-140	-
	Acetato de etila	30	10-60	Solvente, suor
	Acetato de isoamila	1	0,5-5,0	Banana, éster, solvente
	Hexanoato de etila	0,2	0,1-0,5	Maçã, frutado, suor
	Octanoato de etila	0,5	0,1-1,5	Maçã, frutos tropicais, suor
	Acetato de 2-etilfenila	3,0	0,05-2,0	Rosas, mel, maçã, suor
Álcool	Nicotinato de etila	2	1,0-1,5	Perfume, granuloso
	Metanol	10000	0,5-3,0	Alcoólico, solvente
	Etanol	14000	20000-80000	Alcoólico, forte
	1-propanol	700	3-16	Alcoólico
	2-propanol	1500	3-6	Alcoólico
	2-metilbutanol	65	8-30	Alcoólico, vinoso, banana
	3-metilbutanol	70	30-70	Alcoólico, vinoso, banana
	2-feniletanol	125	8-35	Rosas, amargo, perfumado
	1-octeno-3-ol	0,2	0,03	Relva cortada, perfume
	2-decanol	0,015	0,005	Anis, coco
	Glicerol	-	1200-2000	Doce, viscoso
Dicetona Vicinal	Tirosol	200	3-40	Amargo, químico
	2,3-butadiona	0,07-0,15	0,01-0,4	Manteiga e caramelo
	3-hidroxi-2-butanona	17	1-10	Frutado, mofo, madeira
	2,3-butanodiol	4500	50-150	Borracha, suor, quente
	2,3-pentanodiona	0,9	0,01-0,15	Manteiga, frutado
3-hidroxi-2-pentanona	-	0,05-0,07	-	

Fonte: Adaptado de ALMEIDA (2006).

2.5. Análise Instrumental

2.5.1. Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia na região do Infravermelho avalia a interação dos componentes da matéria com a radiação nessa janela espectral. Trata-se de uma técnica que mede a absorção ou transmitância proveniente da interação radiação/matéria (ALMEIDA, 2006; ESTRACANHOLLI, 2012).

A radiação no infravermelho é dividida, por energia, em três gamas: infravermelho próximo ($12800-4000\text{ cm}^{-1}$), médio ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) e longínquo ($200-10\text{ cm}^{-1}$), sendo o primeiro deles o mais energético. A radiação no infravermelho próximo (*Near InfraRed* – NIR) é a mais aplicada nas indústrias químicas, alimentícias, entre outras (ALMEIDA, 2006).

A luz emitida pelo filamento aquecido, no Espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared* – FTIR) é conduzida a um interferômetro onde é dividida em dois feixes por um *beam splitter* (divisor de feixes). Um dos feixes divididos é conduzido a um espelho fixo e retorna pelo mesmo caminho e posteriormente atinge o detector. O outro é guiado para um espelho móvel que irá produzir interferências ao retornar de encontro ao primeiro feixe, produzindo interferências construtivas e destrutivas, representado pelo interferograma. O feixe composto é conduzido até a amostra, e ao atravessá-la parte da radiação pode ser absorvida, segundo a lei de Lambert Beer. Um interferograma contendo as informações de absorção da amostra é gerado e decomposto a partir do cálculo da Transformada de Fourier para obtenção do espectro de absorção da amostra, conforme evidenciado na Figura 11 (ESTRACANHOLLI, 2012).

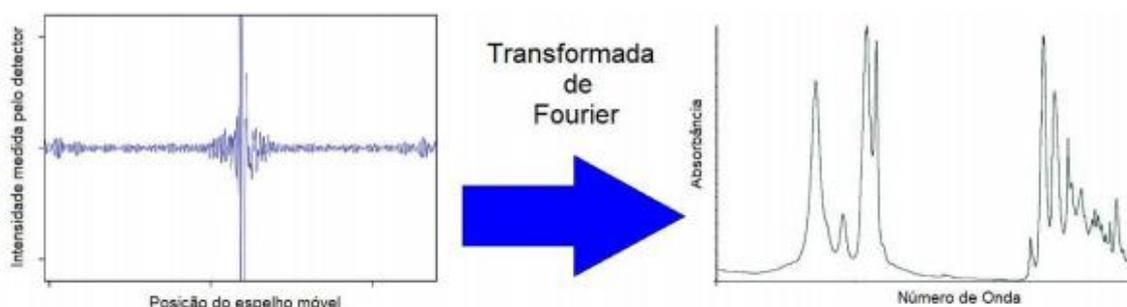


Figura 11: Aplicação da Transformada de Fourier em um interferograma. À esquerda medida em função da posição do espelho, à direita medida em função do número de onda. Fonte: ESTRACANHOLLI (2012).

A interação da radiação com a matéria ocorre por absorção quando energia de radiação se iguala a algum tipo de transição do átomo ou molécula. A radiação na região do infravermelho está associada a transições de energia vibracional e rotacional das ligações moleculares. A absorção da energia fornecida aumenta a amplitude das deformações. Entretanto, nem todas as ligações das moléculas são capazes de absorver radiação dessa janela espectral. É necessário que a molécula apresente momento de dipolo que se altere durante a vibração para que ela absorva radiação IR (ALMEIDA, 2006; ESTRACANHOLLI, 2012).

Os diferentes grupos funcionais que compõem as moléculas apresentam vibrações características de acordo com o comprimento de onda e o comportamento da banda de absorção. Em comprimentos de onda acima de 1300 cm^{-1} são observadas vibrações referentes a grupos funcionais independente de suas cadeias carbônicas, e por isso essa região é identificada como região de grupos (Tabela 2).

Tabela 2: Absorção de grupos funcionais na região do Infravermelho médio.

Comprimento de onda (cm^{-1})	Grupo funcional
3640-3610	O-H (livre)
3500-3070	N-H
2960-2850	C-H alifático
1750-1740	C=O ésteres
1740-1720	C=O aldeído
1720-1700	C=O cetona
1675-1645	C=C
1590-1550	NH ₂
1470-1430	CH ₂
1390-1370	CH ₃
1420 e 1300-1200	C-O ácido carboxílico
1300-1020	C-O ésteres
1200-1050	C-O alcoóis e fenóis
1155-1150	C-O hidratos de carbono
1024-998	C-OH hidratos de carbono
≈ 920	O-H

Fonte: ALMEIDA, 2006.

Entre 1300-400 cm^{-1} as bandas de absorção são muito similares em função das próprias espécies que as produzem, por isso dificilmente são atribuídas a grupos funcionais específicos. Entretanto, na análise do composto como um todo essa região apresenta combinações características com especial significado e por isso é denominada "região de impressão digital" (ALMEIDA, 2006).

2.5.2. Microextração em Fase Sólida (SPME)

A Microextração em Fase Sólida (*Solid Phase Microextraction*, SPME) é uma técnica de preparação de amostra que incorpora a extração e concentração em uma só etapa, sem a utilização de qualquer solvente, o que minimiza as perdas de compostos voláteis. Os analitos são diretamente extraídos e concentrados na fibra de extração (VIEIRA, 2007; MORÉS, 2009).

A SPME é uma técnica de fácil aplicação, baixo custo, demanda pequeno volume de amostra e é rápida, além de respeitar o meio ambiente, uma vez que não é utilizado nenhum tipo de solvente orgânico. O método é empregado para análise de amostras biológicas, ambientais e de alimentos e bebidas (MORÉS, 2009).

O procedimento envolve duas etapas: a primeira de extração e a segunda de dessorção. Na etapa de extração ocorre a migração do analito presente na amostra para a fibra até o equilíbrio. Este processo pode ocorrer por adsorção ou absorção, dependendo do tipo de fibra utilizada (MORÉS, 2009).

A escolha da fibra está relacionada com a natureza do analito de interesse. A seleção é baseada na polaridade e volatilidade dos compostos. As principais fibras disponíveis no mercado são a polidimetilsiloxano (PDMS), poliacrilato (PA) Carbowax (CW), Carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB), polidimetilsiloxano divinilbenzeno (PDMS/DVB) dentre outras (MACHADO, 2010).

A extração por SPME pode ser realizada de dois modos: o modo *headspace* e a imersão direta. A escolha depende da polaridade e volatilidade dos analitos em questão. Os compostos voláteis são mais

estudados por *headspace* sendo analisados por CG-EM. Por outro lado, os compostos menos voláteis são frequentemente estudados por imersão direta, onde a fibra é imersa no líquido, seguido de análises por cromatografia gasosa ou cromatografia líquida (VIEIRA, 2007).

Na SPME, controlam-se diversos parâmetros, como revestimento da fibra, temperatura de extração, tempo de extração, pH, força iônica do meio, velocidade de agitação e tempo de dessorção (MACHADO, 2010).

Geralmente o pH da matriz deve ser ajustado para aumentar a recuperação da extração do analito sobre a fibra, de acordo com a natureza do analito. A adição de sal pode melhorar a eficiência da extração, principalmente para os analitos mais polares. O aumento da força iônica provoca redução na solubilidade do analito na matriz, facilitando a sua extração pela fibra, fenômeno chamado de *salting out* (MACHADO, 2010).

A SPME sempre esteve associada à cromatografia em fase gasosa, constituindo uma metodologia de caracterização da composição volátil de uma ampla gama de produtos. No entanto, o seu uso com cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performacy Liquid Chromatography* – HPLC) tem-se tornado uma excelente alternativa para análise de compostos não voláteis (MACHADO, 2010).

2.5.3. Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas GC-MS

A cromatografia gasosa é um método de separação baseada na partição da substância entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna capilar. Ao realizar-se uma análise por cromatografia gasosa, a amostra é solubilizada em solventes orgânicos, vaporizada e injetada no cromatógrafo. A eluição é realizada por um fluxo de fase móvel gasosa inerte, que transporta o analito através da coluna (SKOOG *et al.*, 2006).

A identificação dos compostos presentes na amostra pode ser realizada por meio da comparação entre o seu tempo de retenção e o tempo de retenção de padrões. Outra maneira de identificar as substâncias é por meio do cálculo do índice de *Kovats*. O índice de retenção de um

composto é um número, obtido por interpolação, que relaciona o tempo de retenção do componente em estudo ao tempo de retenção de dois padrões (geralmente hidrocarbonetos) eluídos antes e após o pico do composto de interesse, ou seja, obtêm-se um tempo relativo de eluição de um determinado componente em relação a uma série de alcanos. O índice *Kovats* é sempre calculado em condições de análise isotérmicas da temperatura do forno do cromatografo. Quando se utilizam temperaturas programadas de coluna, um valor similar é calculado utilizando os números extraídos de seus algoritmos, sendo que este valor é o índice de retenção linear (LRI). O LRI é calculado utilizando-se a Equação 2 (SKOOG *et al.*, 2006).

$$LRI = 100 \left(\frac{t_c - t_n}{t_{n+1} - t_n} + n \right) \quad (2)$$

onde:

LRI - índice de retenção linear;

t_c - tempo de retenção do composto de interesse;

t_{n+1} - tempo de retenção do hidrocarboneto posterior;

n - nº de carbonos do hidrocarboneto anterior.

Na cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, as moléculas são bombardeadas no estado gasoso, sob vácuo, por um fluxo de elétrons, produzidos por filamentos de tungstênio. O impacto dos elétrons com as moléculas produz os fragmentos da molécula, espécies iônicas ou radicais livres, os quais são encaminhados para um analisador de massas. Quando a separação na análise cromatográfica é boa, a espectrometria de massas fornece um espectro de massas para cada pico, ou seja, para cada substância. O espectro de massas indica a massa molar e o padrão de fragmentação, que pode ser comparado com os espectros encontrados na biblioteca do programa, por meio de propostas de probabilidade quanto à identidade da substância analisada (SKOOG *et al.*, 2006).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiais e Reagentes

3.1.1. Reagentes

Os reagentes utilizados foram água destilada, ácido peracético PAC 200 ADPRO pó, em solução 0,5 %, para limpeza química e acondicionamento das membranas. O NaCl (Fluka) foi o eletrólito usado para extração por SPME.

3.1.2. Membrana de microfiltração

Foram utilizadas membranas de microfiltração na conformação de fibra oca constituídas por poli (éter imida) – PEI (ULTEM[®]) polímero base e polivinilpirrolidona (PVP – Fluka Chemika Co.) como aditivo. Os poros apresentavam um diâmetro médio de 0,4 μm (Figura 12), cedidas pela PAM Membranas Seletivas LTDA.

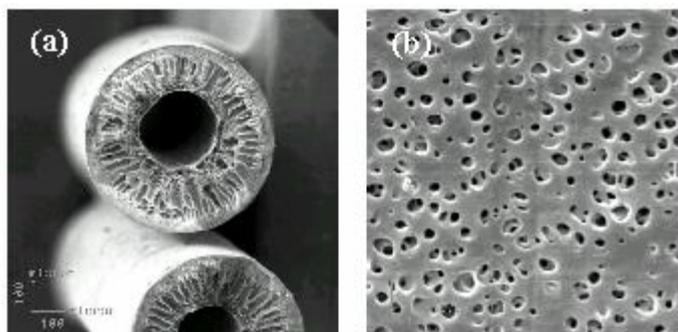


Figura 12: (a) Seção transversal da membrana de microfiltração e (b) distribuição dos poros na superfície da membrana de microfiltração. Fonte: França Neta (2005).

3.1.3. Módulo de permeação

As membranas de microfiltração foram acondicionadas em uma carcaça cilíndrica de acrílico utilizando resina epóxi (Araldite Profissional Brascola), constituindo, dessa forma, os módulos de permeação.

3.1.4. Sistema de microfiltração

Para a montagem do sistema foram utilizados tubos de silicone com 0,8 mm de diâmetro interno e conexões de engate rápido. Para isolamento

térmico foi utilizada espuma elastomérica, o resfriamento foi realizado utilizando banho termostático (OPTHERM) com agitador (HAAKE).

3.2. Técnicas Experimentais e Instrumentos

A qualidade do permeado das microfiltrações realizadas foi monitorada por análises físico-químicas: extrato seco e turbidez, e através de técnicas instrumentais de Espectroscopia FTIR e SPME com GC-MS.

3.2.1. Determinação da Turbidez

Para determinação da turbidez utilizou-se um turbidímetro analógico DEL DLA1000/II (Figura 13). Esse equipamento tem por princípio a medida de quantidade de luz refletida, e fornece resultados em ordem de grandeza da concentração de sólidos em suspensão na amostra.



Figura 13: Turbidímetro Analógico DEL DLA1000/II – Departamento de Química/CEFET-MG.

3.2.2. Determinação do Extrato Seco

Para determinação do extrato seco utilizou-se uma estufa (QUIMIS) e balança semi-analítica (SHIMATZU).

3.2.3. FTIR

Foram realizadas análise no Espectrofotômetro de Infravermelho, *Shimadzu* modelo IR-Prestige 21 equipado com acessório de Refletância Total Atenuada (*Attenuated Total Reflectance - ATR*), disponível no Departamento de Química/CEFET-MG.

3.2.4. SPME

Nesta análise utilizou-se um *holder* e a fibra DVB/CAR/PDMS da marca *Sigma Aldrich*. Vials de 20 mL marca *Supelco* e Septos de silicone.

3.2.5. GC-MS

As análises por GC-MS foram realizadas no Departamento de Química/CEFET-MG, em um Cromatógrafo a Gás (*Agilent Technologies 7890 A GC System*) acoplado ao Espectrômetro de Massas (*Agilent Technologies 5975C inert MSD Triple-Axis Detector*) e separados cromatograficamente na coluna HP5-MS (30 m de comprimento, 0,250 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme), utilizando-se hélio como gás de arraste.

3.3. Procedimentos

3.3.1. Sanitização

Os tanques *post mix* e os materiais utilizados na coleta das amostras foram sanitizados com solução de ácido peracético 0,5 %, deixando sob a ação do sanitizante por 10 minutos.

Os materiais utilizados para armazenamento e medição durante o processo de filtração também foram sanitizados utilizando solução de ácido peracético 0,5 %.

O sistema de microfiltração foi operado com solução de ácido peracético 0,5 %, durante 10 minutos para sanitização e, posteriormente, com água destilada para remoção dos resíduos.

3.3.2. Amostras para Microfiltração

As amostras utilizadas neste estudo foram gentilmente cedidas pela Cervejaria Inconfidentes. As cervejas comerciais, produzidas pela cervejaria

parceira, não passam por processo de filtração ou pasteurização. A composição de cada tipo de cerveja é descrita a seguir de acordo com a Comissão de Estilos de Cerveja (Beer Judge Certification Program – BJCP, 2008).

Vinil Baba ESB

Aroma: de malte que lembra caramelo. Sem diacetil

Sabor: Amargor de médio a alto. Sabor de lúpulo moderadamente baixo. Equilibrada normalmente para o lado do amargor, mas sem subjugar por completo os sabores de maltes, ésteres e lúpulos.

Ingredientes: Maltes pale ale, malte escuro para ajuste de cor. Não utiliza cereias não maltados. Lúpulos ingleses são mais típicos.

Jambreiro Blondie Ale

Aroma: Aroma adocicado, aromas frutados e aroma de lúpulo de médio, que remete à cítrico.

Sabor: Leve dulçor de malte inicial, com uma leve característica de malte (como pão, torrada, biscoito e trigo). Sabor lupulado moderado, porém de rápida impressão. Amargor médio. Finaliza médio-seco. Sem diacetil.

Ingredientes: Água, malte de cevada, malte de trigo, lúpulo e leveduras

Jambreiro Belgian Dark Strong Ale (Ale Forte Escura Belga)

Aroma: Complexo, com um dulçor rico de malte, presença significativa de ésteres e de álcool e com condimentado moderado. O aspecto maltoso é rico e intenso, caramelado e tostado. Os ésteres frutados moderados com notas de frutas secas, damasco, passas. Fenol que remete à condimentado leve. Álcool com aroma baixo. Aroma de lúpulo virtualmente ausente.

Ingrediente: Água, maltes de cevada, açúcar cristal, lúpulos e leveduras.

A microfiltração foi realizada com fundo de dorna de maturação das amostras identificadas conforme a Tabela 3.

Tabela 3: Registro das amostras de cerveja

Amostra	Tipo	Estado	Coleta	Filtração	Volume de Filtrado (mL)
Jambreiro Belgian Dark Strong	Ale	Maturada	24/11	02/12	1600
Vinil Baba ESB 1	Ale	Em Maturação	28/11	04/12	1500
Vinil Baba ESB 2	Ale	Em maturação	24/11	05/12	1000
Vinil Baba ESB 3	Ale	Em maturação após uso de biofine	20/11	09/12	850
Jambreiro Blondie	Ale	Maturada	09/12	10/12	1200

A purga da *Jambreiro Belgian Dark Strong* apresenta alta concentração de sólidos, açúcares e leveduras. A purga da cerveja *Jambreiro Blondie*, apresenta alto teor de proteínas provenientes do malte de trigo e leveduras. O processo de purga já havia sido encerrado, porém as cervejas permaneceram no tanque por um extenso período de tempo, acumulando sólidos no fundo de dorna de maturação.

A purga da cerveja *Vinil Baba* foi realizada em três processos desde o início da maturação. O primeiro processo, logo após adição do floculante, coletou a amostra *Vinil Baba ESB 3*, essa apresenta a maior concentração de leveduras e sólidos. A segunda coleta foi realizada após 4 dias, correspondendo à *Vinil Baba ESB 2*, com menor teor de leveduras e sólidos. A *Vinil Baba ESB 1* corresponde à amostra coletada 8 dias após o uso de biofine, apresentando teor de leveduras e sólidos próximo da amostra 2.

3.3.3. Coleta e Armazenamento das Amostras

As amostras foram coletadas a partir do fundo do tanque de fermentação/maturação de cervejas da Microcervejaria Inconfidentes em *post mix* de 19 L, devidamente sanitizados, e armazenadas a 4 °C em câmara fria.

3.3.4. Módulo de Permeação

O módulo de permeação apresenta uma configuração semelhante a um trocador de calor casco e tubo (Figura 14, p. 34). As membranas de microfiltração foram acondicionadas em uma carcaça cilíndrica de acrílico de comprimento de 20 cm, diâmetro interno de 2 cm e densidade de empacotamento de 800 m²/m³ (área de membrana por volume de módulo). Para fixação das fibras foi utilizada resina epóxi (Araldite Profissional Brascola). A resina funciona também como barreira para separar a alimentação do permeado (FRANÇA NETA, 2005).

A Tabela 4 apresenta os dados relativos a confecção dos módulos de permeação.

Tabela 4: Cálculos relativos ao sistema operacional da microfiltração

Variável	Equação	Valor determinado
Área transversal da carcaça A _c (m ²)	$\frac{\pi d^2}{4}$	0,00031415
Área transversal das fibras A _f (m ²)	$\frac{n\pi d^2}{4}$	0,000072255
Densidade de empacotamento (m ² /m ³)		800
Área útil do módulo A _u (m ²)	A _c - A _f	0,000241896
Diâmetro útil D _u (m)		0,017549929
Vazão do reciclo Q _A (L/h)	Medida no rotâmetro	53
Velocidade de escoamento V (m/h)	$\frac{Q_A \times 0,001}{A_u}$	219
Reynolds (Re)	$\frac{V \times D_u}{\nu \times 3600}$	1058

Os módulos de permeação foram compactados com água destilada a uma pressão de 1,0 bar até a estabilização do fluxo permeado. Finalizada a compactação, variou-se à pressão do sistema de 0,10 a 0,55 bar e para cada medida de pressão foi obtido um valor de fluxo permeado, expresso em L/h.m². Todos os testes de permeabilidade hidráulica foram realizados a temperatura ambiente (FRANÇA NETA, 2005).

Os valores obtidos para o fluxo permeado expressos em L/h.m², foram representados graficamente em função da diferença de pressão utilizada. Os pontos obtidos foram linearizados e o coeficiente angular da reta descreve a permeabilidade hidráulica da membrana, expresso em L/h.m².bar.

Durante a filtração foram realizadas medidas de permeabilidade para avaliar a variação do fluxo permeado ao longo do tempo de acordo com cada amostra.

A Figura 14 apresenta a vista lateral do módulo de permeação, onde a alimentação foi realizada pelo interior da carcaça na entrada número 1, o permeado coletado no interior das fibras ocas na outra extremidade do módulo de microfiltração, saída 3, e o concentrado recolhido pela saída 2.

A Figura 15 apresenta a seção transversal dos módulos de permeação.



Figura 14: Vista lateral de um dos módulos de permeação.

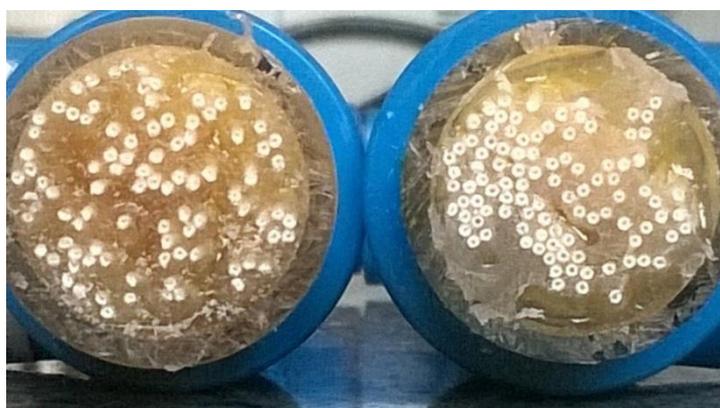


Figura 15: Seção transversal dos módulos de permeação.

3.3.5. Sistema de Microfiltração

O sistema de microfiltração montado explora o escoamento tangencial (*cross-flow*).

No sistema utilizado (Figura 16, p. 35) a amostra de cerveja foi acondicionada em um tanque de alimentação, resfriado a menos de 4 °C para a estabilização antes da filtração em banho termostático.

A alimentação foi realizada pela entrada 1 mostrada na Figura 16, transportada pela bomba (3) até o módulo de permeação (4). Na saída do permeado tem-se um rotâmetro para controle de vazão (5) e finalmente a coleta da amostra em 6. Em 7 tem-se um manômetro para controle da pressão do sistema, em 8 uma válvula para regular a vazão, em 9 um rotâmetro para medir a vazão de reciclo, e finalmente o retorno do concentrado à alimentação.

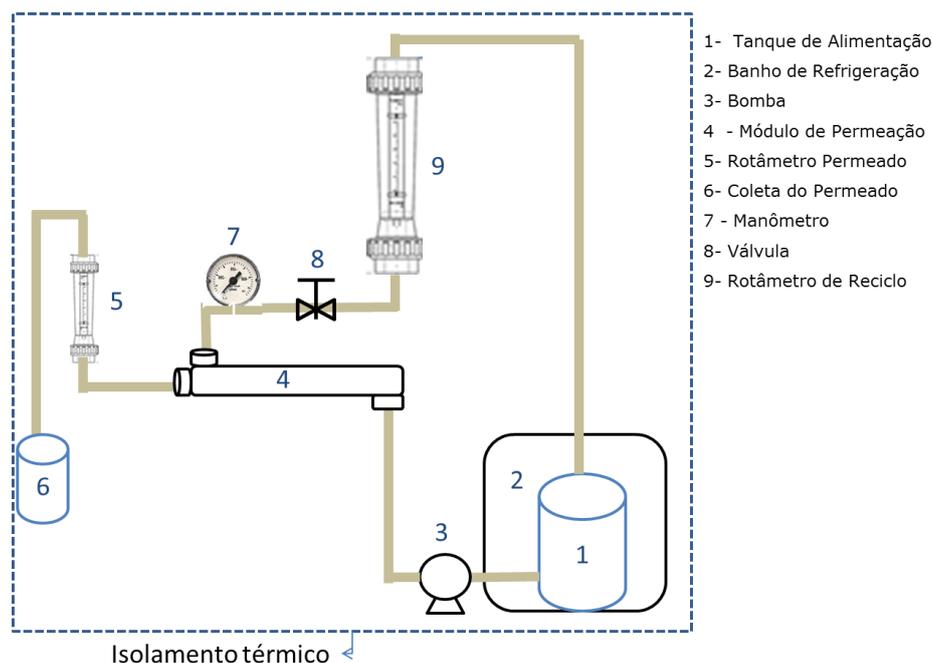


Figura 16: Esquema do sistema de microfiltração de cerveja.

3.3.6. Análises Físico-Químicas

Os métodos utilizados neste item foram baseados nas normas e metodologias de análises encontradas nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2004).

3.3.6.1. Preparo das amostras

Todas as análises foram realizadas com as amostras descarbonatadas, tanto para as cervejas microfiltradas quanto para as cervejas comerciais. Para a descarbonatação, a amostra foi transferida para um béquer de 500 mL e agitada com um bastão, mantendo a temperatura entre 20 °C e 25 °C.

3.3.6.2. *Determinação da Turbidez*

Foi feito ambiente no frasco com cada uma das amostras, antes da análise. Foram realizadas as medidas adicionando volume de amostra até preencher o frasco, então, inseriu-se o frasco no turbidímetro, previamente calibrado, tampando-o. Os valores foram determinados de acordo com a faixa de turbidez utilizada na calibração.

O equipamento fornece medidas na unidade NTU (*Nephelometric Turbidity Unit* - Unidade de Turbidez Nefelométrica), unidade utilizada no SI (Sistema Internacional), que foi convertida para EBC (*European Brewery Convention* - Convenção Européia para Cerveja).

3.3.6.3. *Determinação da Extrato Seco*

Essa análise foi feita para as amostras de cerveja microfiltrada, comercial e purga. O procedimento foi realizado em triplicata.

Mediu-se a massa dos cadinhos, previamente secos à estufa a 100 °C, transferiu-se, com auxílio de uma pipeta volumétrica, 10,00 mL de amostra, e determinou-se novamente a massa.

As amostras foram expostas à uma temperatura de 100 °C em estufa até obtenção de massa constante. Foram retiradas da estufa e acondicionadas em dessecador até atingir a temperatura ambiental. Determinou-se, então, a massa do extrato seco.

3.3.7. Análises Químicas

3.3.7.1. *FTIR*

A amostra foi inserida nas seguintes condições: Resolução 4.0, 32 *scans*, número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} (ALMEIDA, 2006).

3.3.7.2. *SPME e GC-MS*

Os *vials* foram limpos com detergente neutro, água deionizada e secos a 100 °C. Antes do uso, a fibra foi condicionada a 250 °C durante 10 minutos (MACHADO, 2010).

Para o processo de extração, colocou-10 mL de amostra no *via*/ hermeticamente fechado juntamente com 3 g de NaCl, que foi mantido em

aquecimento a 60 °C por 10 minutos. Em seguida, o septo foi perfurado e introduzida a seringa no *vial*. Expôs-se a fibra ao *headspace* da amostra durante 30 minutos. Depois de finalizada a extração, a fibra foi recolhida ao interior da seringa e retirada do *vial*. Com a fibra retraída, a seringa foi injetada no cromatógrafo e exposta para dessorção. Terminada a dessorção, a fibra foi novamente recolhida (Figura 17) (MACHADO, 2010).

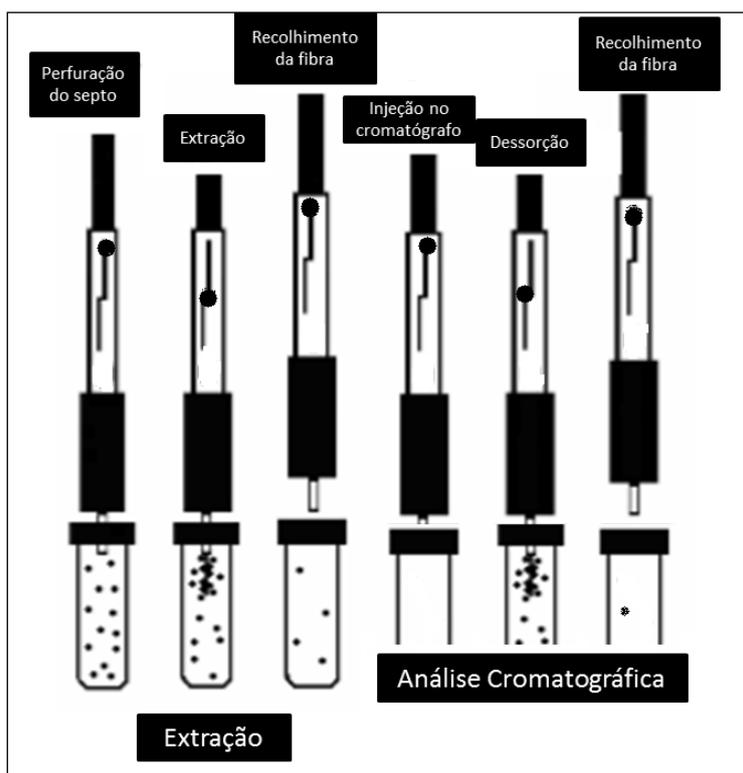


Figura 17: Amostrador de SPME para extração e dessorção de analitos para análise por cromatografia gasosa. FONTE: Adaptado de MORÉS (2009).

A amostra foi injetada no Cromatógrafo a Gás com as seguintes condições: Temperatura do injetor = 240 °C. Programa de temperatura do forno: 40 °C durante 2 minutos, 10 °C.min⁻¹ até 250 °C e permanecer por 1 min (Adaptado de BIAZON, 2008).

3.3.7.3. Cálculo do Índice de Kovats

O índice de *kovats* é um índice que descreve o comportamento de retenção do composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos de

uma série homóloga (C8 a C20) e foi utilizado para identificar os compostos presentes no cromatograma ao comparar com os compostos relatados na biblioteca *National Institute of Standards and Technology 2008* (NIST). Para isso, a mistura contendo os alcanos lineares foi analisada nas condições cromatográficas do método. Os tempos de retenção dos compostos foram obtidos a partir do cromatograma e, através do índice de *kovats* obtido na literatura e do *kovats* tabelado, foi obtida uma curva para o cálculo do índice de *kovats* dos compostos identificados nas amostras.

3.3.8. Análise Sensorial

Para uma avaliação comparativa das cervejas microfiltradas com as cervejas comerciais, foi feita análise sensorial descritiva pelos cervejeiros da Cervejaria Inconfidentes.

A análise sensorial foi realizada utilizando o método de Perfil Livre Flash adaptado. Neste tipo de análise os avaliadores ordenam os produtos favorecendo a diferenciação utilizando atributos discriminativos. O PF foi realizado em quatro etapas, a primeira consiste em descrever as diferenças perceptível entre as amostras por cada avaliador. No início da segunda sessão, todas as descrições foram reunidas e demonstradas ao conjunto de avaliadores, com oportunidade de melhorarem e atualizarem suas listas. A terceira e a quarta sessões foram replicatas da análise sensorial. Ao final, obteve-se uma descrição conjunta de aroma, sabor, odor, cor e turbidez das amostras avaliadas (DUTCOSKY, 2013).

A análise foi realizada em ambiente tranquilo, bem iluminado, sem presença de odores. Garantindo que o degustador não tivesse influência de perfumes, cansaço ou fome. Para a limpeza do paladar foi utilizada água.

A temperatura utilizada foi em torno de 10 °C. Temperaturas elevadas favorecem a perda de compostos voláteis, temperaturas baixas podem anestesiar as papilas gustativas. O copo utilizado permitiu agitação, visualização da cor, transparência, formação de bolhas e estrutura da espuma.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico serão abordados os resultados e a discussão para a qualidade da cerveja recuperada via processo de microfiltração, bem como seu resultado qualitativo. É apresentada, também, a comparação dos resultados da cerveja recuperada com as características da cerveja comercial.

4.1. Caracterização dos Módulos de Permeação

A compactação consiste em uma deformação mecânica irreversível da subcamada porosa da membrana, quando submetida a uma pressão. O fluxo de permeado varia em função da acomodação dos poros, até total compactação da membrana (FRANÇA NETA, 2005).

A compactação foi realizada sob pressão constante de 1,0 bar com circulação de água destilada até atingir um fluxo permeado constante, de acordo com FRANÇA NETA (2005), procedimento representado na Figura 18.

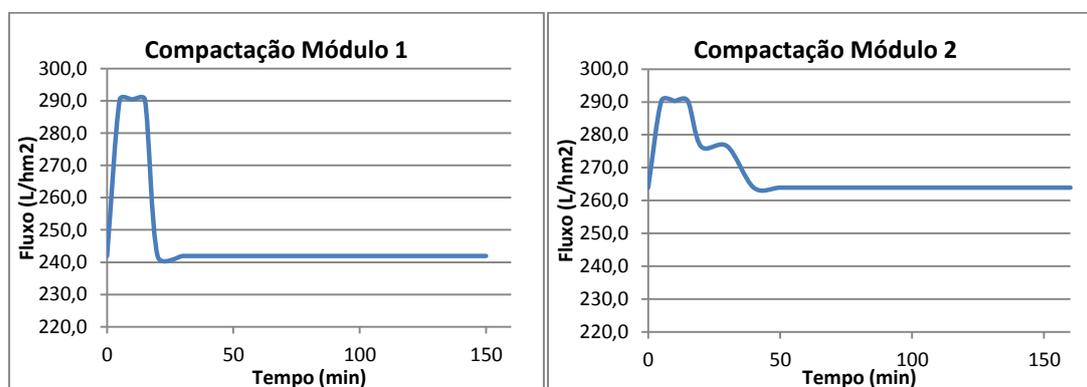


Figura 18: Compactação isobárica dos módulos.

O fluxo permeado obtido após a compactação para os módulos 1 e 2 foram respectivamente de 240 e 260 L/h.m².

Os módulos de microfiltração foram caracterizados quanto a sua permeabilidade hidráulica. A permeabilidade hidráulica das fibras ocas foi obtida mediante técnica descrita no capítulo anterior. O fluxo permeado de água pura apresenta uma dependência linear com a pressão empregada, o

coeficiente angular da reta obtida é utilizado para a determinação da permeabilidade hidráulica da membrana (FRANÇA NETA, 2005).

A determinação da permeabilidade hidráulica dos módulos está representada na Figura 19.

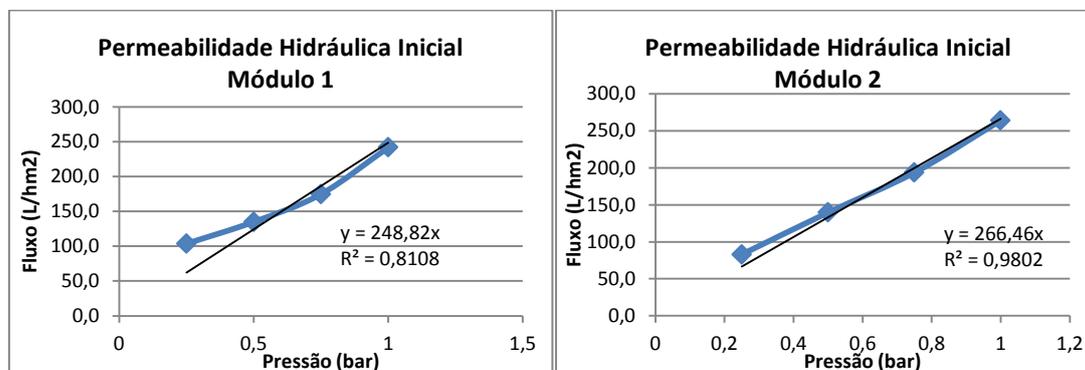


Figura 19: Determinação da Permeabilidade Hidráulica dos Módulos

Os valores de permeabilidade obtidos para os módulos 1 e 2 foi de 248, e 204,8 L/hm²bar, respectivamente, . Esses valores estão de acordo com a permeabilidade determinada pelo fabricante para as membranas de microfiltração. Os baixos valores para o coeficiente de correlação linear, podem estar associado a uma não compactação uniforme das fibras no interior dos módulos de permeação.

4.2. Recuperação do Fundo de Dorna de Maturação

O sistema de microfiltração, montado para recuperação da cerveja de fundo de dorna de maturação, explorava o escoamento tangencial da alimentação sobre a superfície das membranas contidas no interior do módulo de permeação.

O número de Reynolds é um número adimensional indicativo do comportamento do escoamento no interior do módulo de permeação, que está relacionado com a velocidade tangencial da alimentação. Quanto maior esse valor, menor a resistência ao transporte e maior o fluxo permeado (FRANÇA NETA, 2005).

O escoamento tangencial visa reduzir a camada de polarização e, conseqüentemente, o acúmulo de material sobre a superfície da membrana.

Com isso é possível minimizar as incrustações e o efeito de polarização de concentração.

A utilização de uma bomba por deslocamento positivo inviabiliza uma velocidade tangencial elevada, tornando a microfiltração, na prática, um processo lento, com baixo fluxo permeado.

O sistema de microfiltração não era hermeticamente fechado, a demora no processo de separação pode favorecer a perda de compostos voláteis e oxidação de alguns componentes.

O sistema de microfiltração foi operado a uma pressão de 0,5 bar, temperatura de 6°C e um regime de escoamento laminar com um Reynolds igual 1058. O fluxo de permeado foi monitorado durante todo o processo de microfiltração (Figura 20).

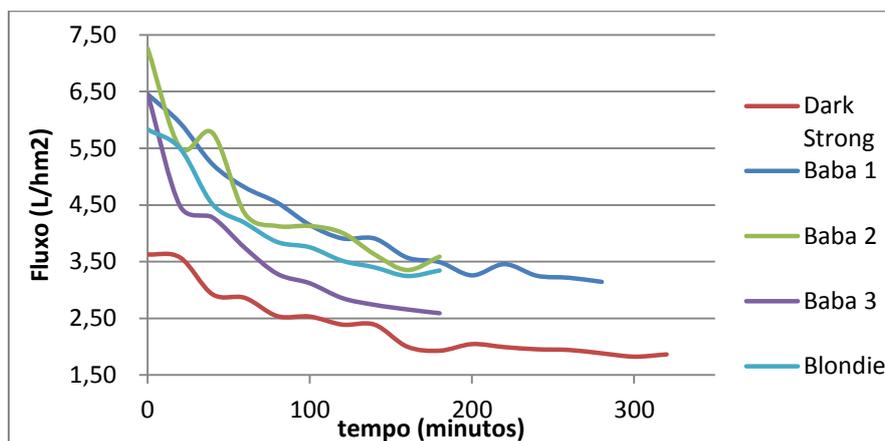


Figura 20: Permeabilidade das Cervejas Durante Microfiltração.

Com os resultados obtidos, observou-se uma redução acentuada do fluxo permeado nos primeiros minutos de filtração devido a polarização de concentração. A redução contínua do fluxo está associada à formação de incrustação. Os baixos valores de fluxo permeado estão associados à elevada concentração de sólidos no fundo de dorna de maturação e ao baixo regime de escoamento. Devido a limitações no sistema de microfiltração não foi possível trabalhar com elevados valores de Reynolds a fim de minimizar os efeitos da incrustação de material particulados sobre a superfície da membrana.

A formação de incrustações durante a microfiltração é um fator determinante para a redução do fluxo permeado, dificultando a permeação do líquido pela membrana impedindo sua passagem. A Figura 21 apresenta o acúmulo de material no interior do módulo de permeação durante o processo de microfiltração.



Figura 21: Saída do permeado do módulo de microfiltração, evidenciando formação de incrustações.

O tipo de cerveja é outro fator determinante no fluxo permeado devido às diferentes concentrações de proteínas e açúcares. A Tabela 5 apresenta a redução do fluxo permeado para cada cerveja.

Tabela 5: Redução do Fluxo Permeado em Função das Cervejas.

	Fluxo permeado inicial (L/hm²)	Fluxo Permeado Final (L/hm²)	Redução (%)
Dark Strong	3,63	1,86	48,76
Baba 1	6,45	3,14	51,32
Baba 2	7,26	3,59	50,55
Baba 3	6,45	2,59	59,84
Blondie	5,83	3,34	42,71

A cerveja *Dark Strong* foi a que apresentou o menor fluxo permeado, justificado pela alta concentração de proteínas e açúcares. Mas a

redução percentual demonstra que a colmatção – obstrução ou preenchimento dos poros – foi menor que em outras cervejas.

As cervejas Baba possuíam altas concentrações de leveduras, por estarem no estágio inicial de maturação e purga, para as quais foi observada maior redução percentual do fluxo. A Baba 3, coletada após uso de floculante para decantação das leveduras, apresentou a maior queda de fluxo, mostrando que a concentração de levedura está diretamente relacionada à formação de incrustações. O maior fluxo apresentado pelas cervejas Baba foi na filtração da Baba 2, essa foi coletada dois dias após a 3, e portanto possuía menor concentração de levedura.

A cerveja *Blondie* é a única que possuía malte de trigo em sua formulação, o que contribui para a alta concentração de proteínas e que resultou no segundo menor fluxo permeado inicial. Porém, a redução percentual de fluxo desta cerveja apresentou-se como a menor, evidenciando que a colmatção está relacionada com a presença de sólidos, principalmente de leveduras.

As Figura 22 e Figura 23 (p. 44) permitem analisar a mudança da aparência das cervejas em relação a purga, evidenciando um aprimoramento visual de turbidez e cor.



Figura 22: À esquerda *Belgian Dark Strong* (esquerda purga, direita permeado), à direita filtração de *Blondie* (esquerda permeado, direita purga).



Figura 23: À esquerda filtração de Baba ESB 1 (esquerda permeado, direita purga), ao centro filtração de Baba ESB 2 (esquerda permeado, direita purga), à direita Baba ESB 3 (esquerda permeado, direita purga).

4.3. Eficiência da Limpeza dos módulos de permeação

A limpeza e sanitização do módulo de microfiltração foi realizada após a filtração de cada cerveja e determinada a permeabilidade hidráulica. Avaliou-se, assim, a eficiência da limpeza em termos de recuperação do fluxo inicial de água destilada. Obteve-se a regressão linear partindo da origem para determinação da permeabilidade hidráulica. Na Tabela 6 estão representadas os valores da permeabilidade hidráulica e as reduções percentuais desse parâmetro.

Tabela 6: Redução da Permeabilidade Hidráulica.

		Permeabilidade Hidráulica (L/hm ² bar)	Redução em relação a inicial (%)
Módulo 1	Antes da filtração da BABA 1 (inicial)	204,87	-
	Antes da filtração da BABA 3	157,32	23,21
Módulo 2	Antes da filtração da <i>Dark Strong</i> (inicial)	266,46	-
	Antes da filtração da BABA 2	125,00	53,09
	Antes da filtração da <i>Blondie</i>	135,51	49,14

De acordo com os resultados obtidos, observa-se uma redução da permeabilidade após a filtração de cada cerveja, evidenciando que a incrustação sobre a superfície da membrana é de caráter parcialmente reversível. Para um aprimoramento da limpeza, poderia ser utilizado banho de ultrassom com o módulo imerso em solução de ácido peracético, aumentando assim a remoção de incrustação e a provável recuperação total da permeabilidade hidráulica. O procedimento foi inviável em decorrência da indisponibilidade de equipamento com dimensões suficientes.

4.4. Análises Físico-Químicas

4.4.1. Turbidez

A medida de turbidez representa uma avaliação quanto à concentração de sólidos suspensos na solução, pois avalia a passagem da luz pelo fluido, considerando que a presença de sólidos em suspensão provoca espalhamento da luz.

Não foi possível determinar a turbidez da purga das cervejas, pois a medida ultrapassou o limite máximo do equipamento de 1000 NTU (4000 EBC).

A Tabela 7 (p. 46) apresenta os valores encontrados para a turbidez das cervejas comerciais e das amostras filtradas. Observa-se uma redução de, pelo menos, 82,93 % da turbidez do filtrado em relação à cerveja comercial.

Tabela 7: Medidas de Turbidez e Comparação da Redução Percentual

Amostra	Turbidez (EBC)	Redução (%)
Blondie ale – filtrado	4,4	96,76
Blondie ale – comercial	136	-
Dark strong – filtrado	0,004	99,41
Dark strong – comercial	0,68	-
BABA 1 – filtrado	0,56	82,93
BABA – comercial	3,28	-
BABA 2 – filtrado	0,52	84,15
BABA – comercial	3,28	-
BABA 3 – filtrado	0,52	84,15
BABA – comercial	3,28	-
Branco	0,000	-

Essa análise permitiu verificar que a retenção de partículas responsáveis pela turbidez da cerveja foi eficiente, podendo assim o processo de microfiltração substituir a filtração convencional.

4.4.2. Determinação do Extrato Seco

Essa análise pretende avaliar o teor de sólidos totais das amostras por evaporação da matriz. Realizada a 100 °C não é capaz de promover reações de decomposição das amostras, proporcionando uma medida de sólidos suspensos e solúveis.

Foram realizadas medidas para as amostras de purgas das cervejas, de filtrados e comerciais. Com esses dados é possível calcular a redução percentual de sólidos proporcionados pela filtração em relação ao produto comercial e à purga. Tais valores estão apresentados na Tabela 8 (p. 47).

Tabela 8: Teor de Sólidos e Redução Percentual do Filtrado

Amostra	Média massa amostra (g)	Média massa amostra seca (g)	Des v. Pad	Teor de sólidos (%)	Redução % de sólidos
Blondie ale – purga	9,73	0,46	0,01	4,73	27,14
Blondie ale – filtrado	9,77	0,34	0,01	3,44	-
Blondie ale – comercial	9,90	0,41	0,01	4,18	17,52
Dark strong – purga	10,15	1,37	0,01	13,46	18,37
Dark strong – filtrado	10,16	1,12	0,09	10,99	-
Dark strong – comercial	10,12	1,29	0,06	12,78	14,06
Baba 1 – purga	9,84	0,69	0,02	7,01	32,37
Baba 1 – filtrado	9,84	0,47	0,01	4,74	-
Baba – comercial	9,91	0,51	0,04	5,18	8,44
Baba 2 – purga	10,00	0,71	0,09	7,06	29,25
Baba 2 – filtrado	9,87	0,49	0,01	5,00	-
Baba – comercial	9,91	0,51	0,04	5,18	3,47
Baba 3 – purga	9,92	0,69	0,07	6,92	26,25
Baba 3 – filtrado	9,99	0,51	0,02	5,11	-
Baba – comercial	9,91	0,51	0,04	5,18	1,41

A cerveja *Dark Strong* apresentou maior valor de extrato seco, mesmo na cerveja filtrada, o que pode estar associado à concentração de açúcares da mesma. Na turbidez, esses compostos estão em solução, portanto a interferência provocada por eles é menor do que quando analisado os sólidos totais.

A redução percentual mínima em relação a purga foi de 18,37 %, e em relação à cerveja comercial foi de 1,41 %. Resultados que evidenciam a preservação das características das cervejas e garantem a separação da cerveja da purga de levedura.

4.5. Análises Químicas instrumentais

4.5.1. FTIR

Os espectros obtidos forneceram dados em Transmitância, para visualizar melhor a comparação com a referência, foram plotados os dados em Absorvância. Os espectros podem ser visualizados no ANEXO I – Espectros FTIR (p. 68).

A Figura 24 apresenta um espectro de FTIR de 4000 a 400 cm^{-1} para as amostras de BABA 1, sobrepondo à amostra comercial.

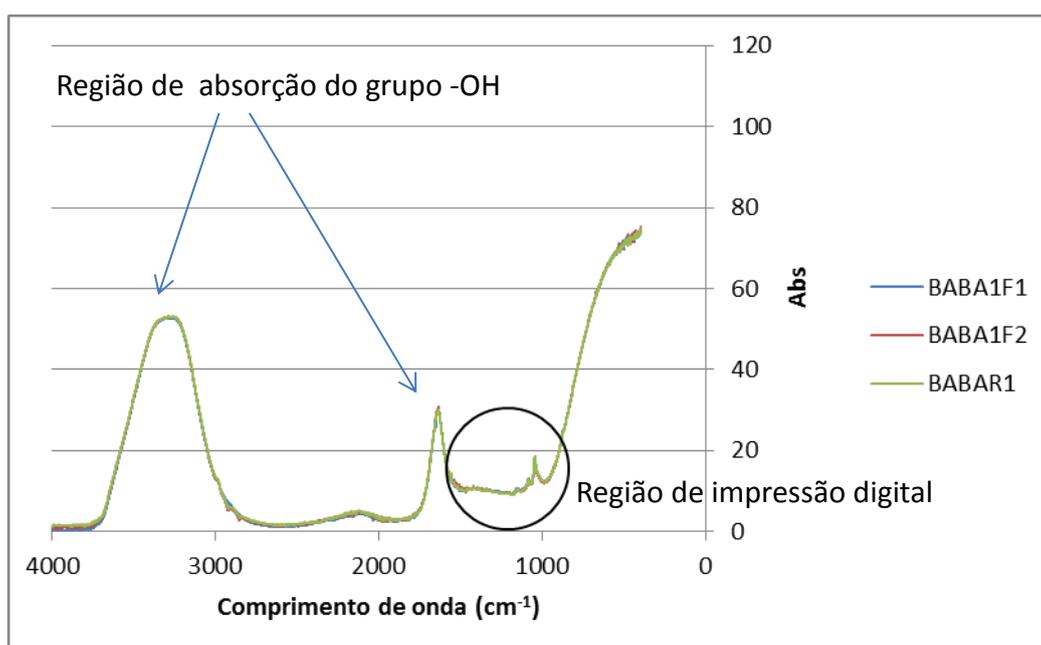
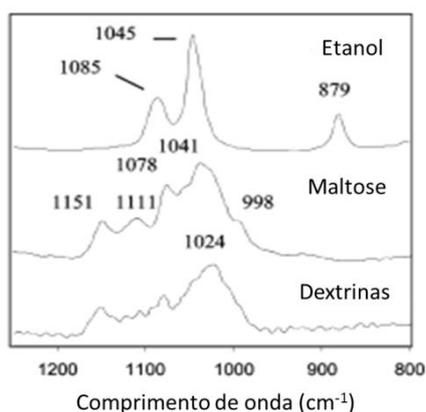


Figura 24: Espectros obtidos na região do infravermelho – ATR-FTIR – para as amostras de BABA 1 comercial (R) e filtrados (F), sobrepostos.

São observadas bandas de absorção de ligações -OH (extensão em 3320 cm^{-1} e torção em 1640 cm^{-1}), que podem ser associadas à grupos hidroxila provenientes da solução aquosa, etanol e ácidos carboxílicos presentes na cerveja.

A região de 1300 a 400 cm^{-1} observa-se bandas vibracionais de difícil interpretação em relação a grupos funcionais específicos. Porém, essa região contém bandas de expressivo significado para a molécula como um todo, sendo chama de região de impressão digital.

DUARTE (2003) analisa espectros de padrões de etanol, maltose e dextrinas na região de impressão digital (Figura 25), possibilitando assim melhor comparação com bandas de absorção presentes nessa região.



**Figura 25: Espectro dos padrões de etanol, maltose e dextrinas.
Fonte: DUARTE (2003).**

A retenção desses compostos durante a microfiltração, identificada pela ausência de bandas em determinada região ou redução na concentração, significaria uma alteração importante na cerveja, impossibilitando o uso desse processo na filtração.

Na Figura 26 (p. 50) pode-se observar a sobreposição total dos espectros, evidenciando que não ocorreu alteração química, em relação a compostos da região de impressão digital da cerveja. Isso certifica que a microfiltração é aplicável quanto à preservação das características de “corpo” da cerveja (dextrinas) e açúcar (maltose).

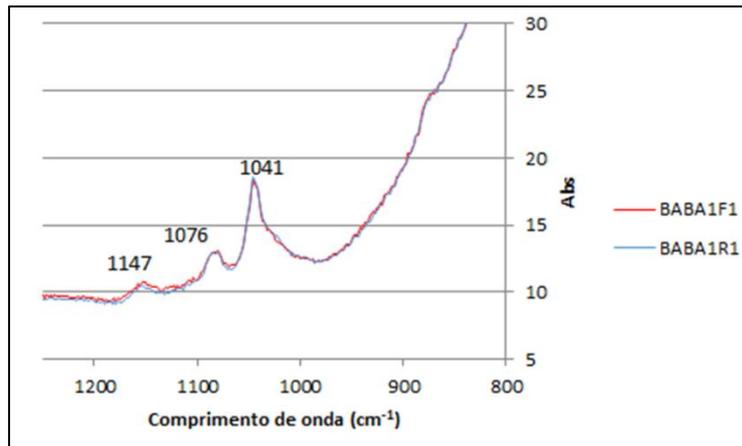


Figura 26: Espectros aproximados na região de impressão digital, do infravermelho – ATR-FTIR – para as amostras de BABA 1 comercial (R) e filtrado (F), sobrepostos.

4.5.2. GC-MS

Foram analisadas amostras de cervejas filtradas e comerciais, com a finalidade de comparar a retenção de compostos pela membrana de microfiltração, além de verificar a presença de substâncias indesejáveis nas cervejas filtradas, provenientes da purga e do contato direto com leveduras após decantarem.

O contato prolongado da cerveja com as leveduras mortas favorece a autólise. Esse processo pode ocasionar modificações na composição aromática da bebida devido aos compostos não voláteis liberados como aminoácidos, peptídeos, nucleotídeos e monoproteínas; e substâncias de caráter volátil como ésteres, alcoóis, aldeídos e lactonas (TONET, 2007).

A análise tem como objetivo avaliar os compostos voláteis, portanto a fibra de extração SPME, previamente condicionada, foi exposta no *headspace* da amostra. O condicionamento da fibra garante a ausência de compostos provenientes de contaminação. A adição de sal na amostra tem por objetivo realizar o fenômeno *salting out*, responsável por reduzir a solubilidade do analito na matriz, facilitando a volatilização e extração pela fibra (BIAZON, 2008).

Para identificação dos compostos, uma mistura de padrões de hidrocarbonetos foi submetida à análise cromatográfica nas mesmas condições das amostras de cerveja, garantindo a correlação dos tempos de

retenção dos compostos. No Anexo II encontra-se o cromatograma da mistura de padrões (Figura 45, p. 72), a Tabela 10 (p. 72) com os dados cromatográficos desta mistura e o gráfico com os dados da curva analítica destes padrões (Figura 46, p. 73).

O cálculo do índice de *Kovats* foi realizado para todos os picos identificados nas amostras, para que a comparação fosse efetiva. A determinação dos compostos foi feita considerando as substâncias de maior probabilidade de correlação, fornecida pela biblioteca *National Institute of Standards and Technology 2008* (NIST) com uma variação máxima em relação ao *Kovats* calculado de 3,0 %.

As replicatas foram sobrepostas para confirmação do mesmo comportamento das amostras. Os picos com tempo de retenção similar foram considerados referentes ao mesmo composto.

Os cromatogramas de todas as amostras (**Erro! A origem da referência não foi encontrada.**, p. **Erro! Marcador não definido.**, até Figura 62, p. 81) estão apresentados no ANEXO III – Cromatogramas. Cromatogramas típicos de cerveja comercial e microfiltrada são apresentados nas Figura 27 e Figura 28 (p. 52).

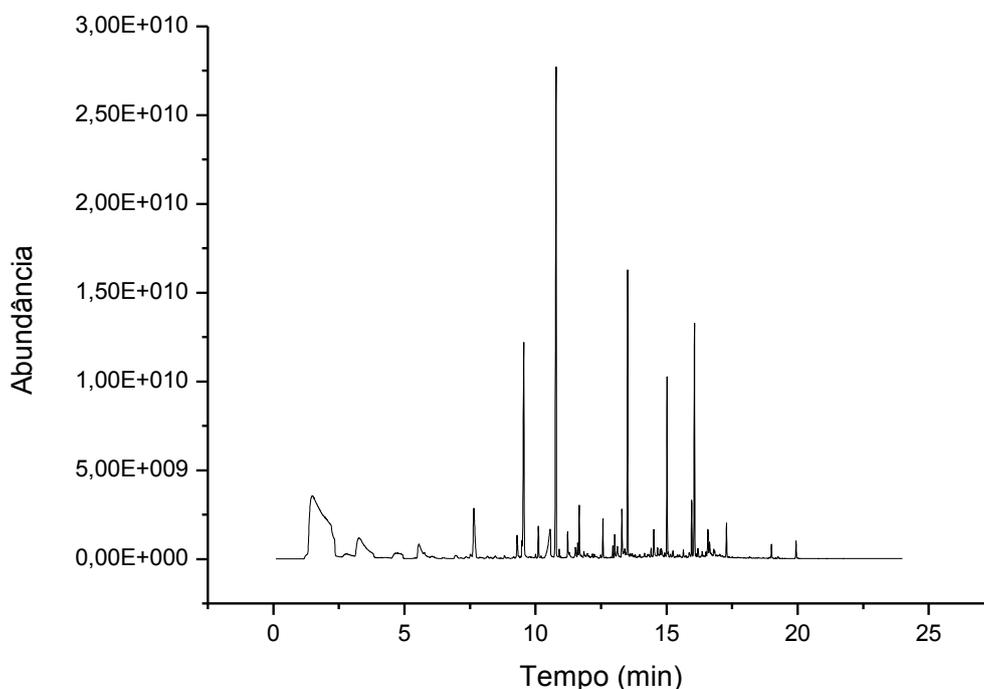


Figura 27: Cromatograma da cerveja *Blondie* Filtrada

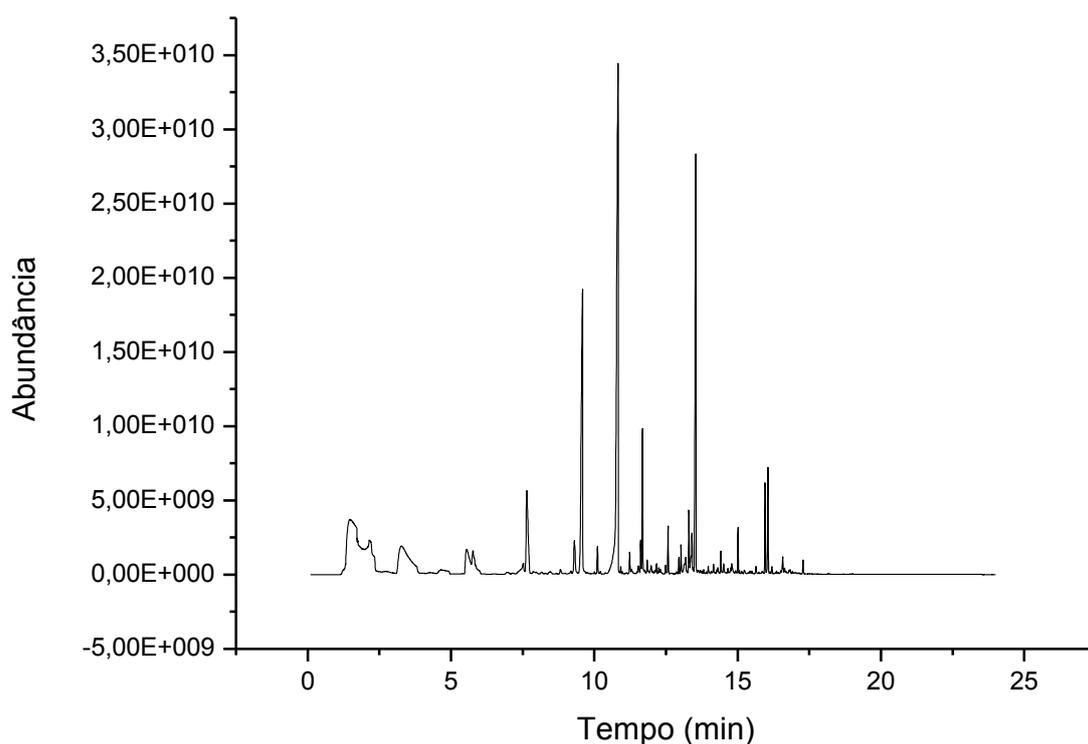


Figura 28: Cromatograma da cerveja *Blondie* Comercial

Os dois cromatogramas mostram pequenas diferenças no perfil cromatográfico, quase imperceptível, e em ambos aparecem uma grande quantidade de compostos.

Os cromatogramas das amostras filtradas foram sobrepostos aos das amostras comerciais para comparação visual (Figura 63, p. 82, à Figura 110 , p. 97). Regiões dos cromatogramas foram aproximados (Zoom) para melhor avaliação das diferenças apresentadas entre as amostras (

ANEXO IV – Comparação dos **Cromatogramas** p. 82).

A extração por SPME permitiu a concentração dos compostos voláteis que foram identificados por CG-MS. No Anexo V, Tabela 11 (p. 98) à Tabela 18 (p. 108), encontram-se os dados de tempo de retenção, índice de Kovats e percentagem de área dos compostos identificados em cada amostra de cerveja.

Considerou-se que, compostos que não apareceram em cervejas filtradas de mesma marca, mas foram identificados em outras amostras filtradas, não foram retidos pela membrana mas perdidos por volatilização devido o sistema não ser hermeticamente fechado.

Após definir os compostos ausentes nas cervejas filtradas, os picos referentes a eles foram verificados visualmente. A imagem ampliada fornece uma melhor visualização da ausência de picos na região.

Os cromatogramas ampliados dos compostos ausentes na cerveja *Blondie* filtrada estão nas Figura 29, Figura 30 e Figura 31 (p. 54).

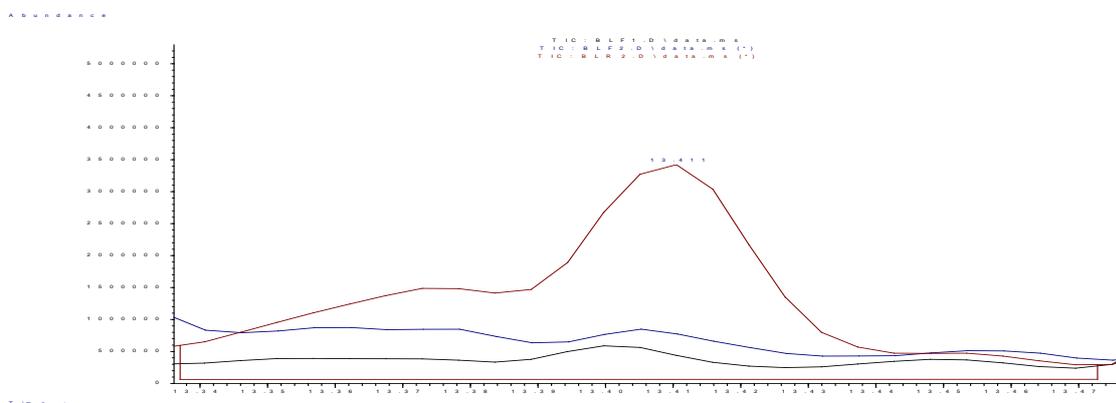


Figura 29: Cromatograma ampliado da cerveja *Blondie* na região de identificação do composto 9-decenoato de etila. Em vermelho o cromatograma da cerveja comercial, em preto e azul as replicatas das amostras filtradas.

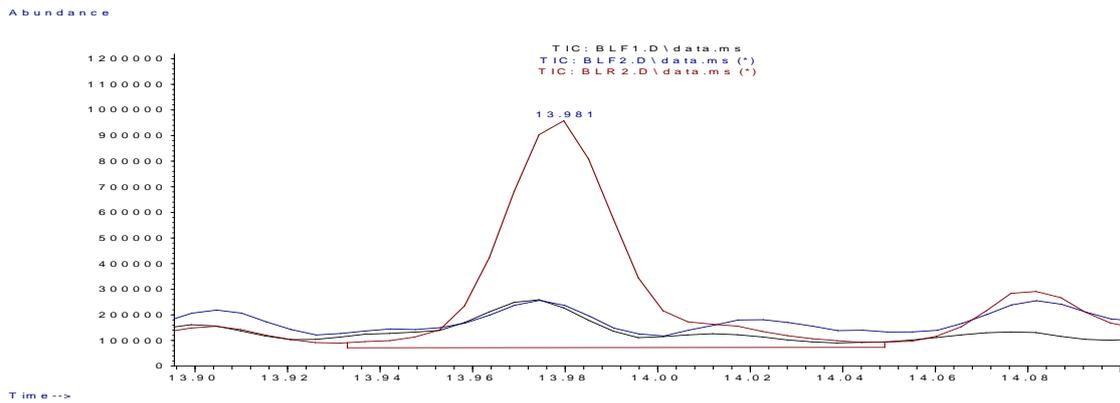


Figura 30: Cromatograma ampliado da cerveja *Blondie* na região de identificação do composto Cariofileno. Em vermelho o cromatograma da cerveja comercial, em preto e azul as replicatas das amostras filtradas.

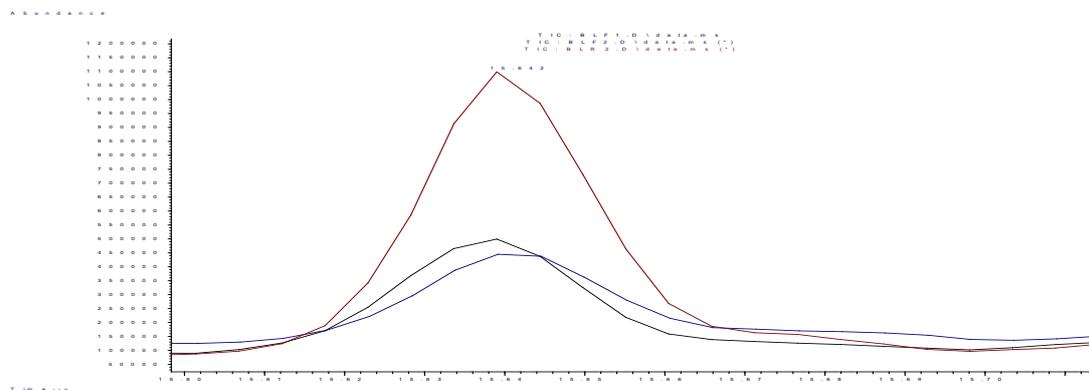


Figura 31: Cromatograma ampliado da cerveja *Blondie* na região de identificação do composto Nerolidol. Em vermelho o cromatograma da cerveja comercial, em preto e azul as replicatas das amostras filtradas.

Os cromatogramas ampliados dos compostos ausentes na cerveja BABA ESB filtrada estão nas Figura 32 e Figura 33 (p. 55).

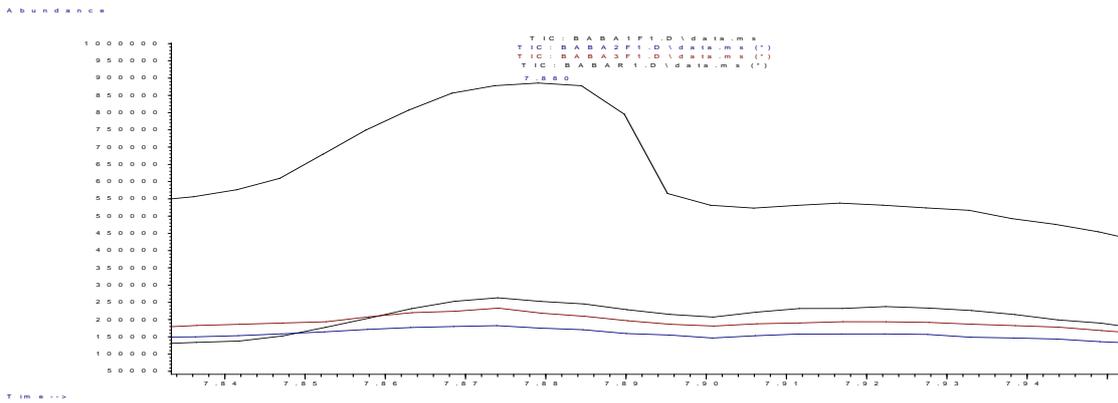


Figura 32: Cromatograma ampliado da cerveja BABA ESB na região de identificação do composto Hexilato de etila. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul, vermelho e verde as amostras filtradas de BABA 1, 2 e 3.

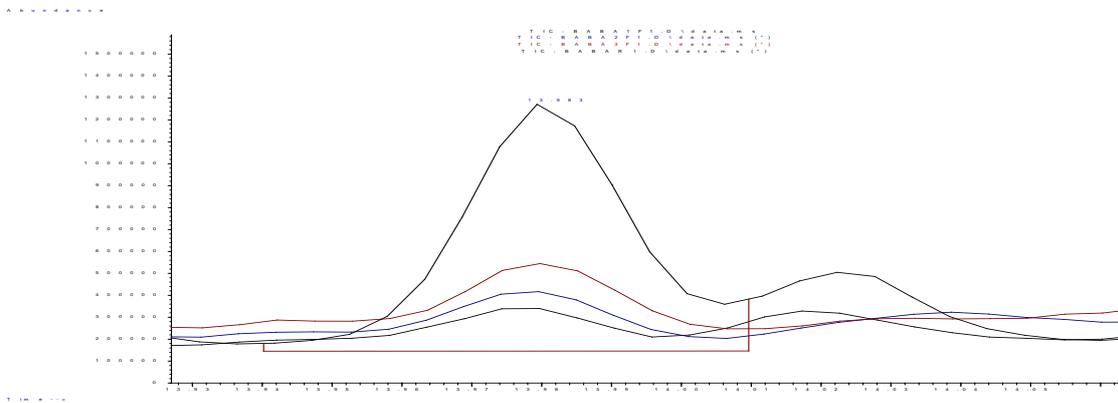


Figura 33: Cromatograma ampliado da cerveja BABA ESB na região de identificação do composto Cariofileno. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul, vermelho e verde as amostras filtradas de BABA 1, 2 e 3.

Os cromatogramas ampliados dos compostos ausentes na cerveja *Belgian Dark Strong* filtrada estão nas Figura 34, Figura 35 e Figura 36 (p. 56).

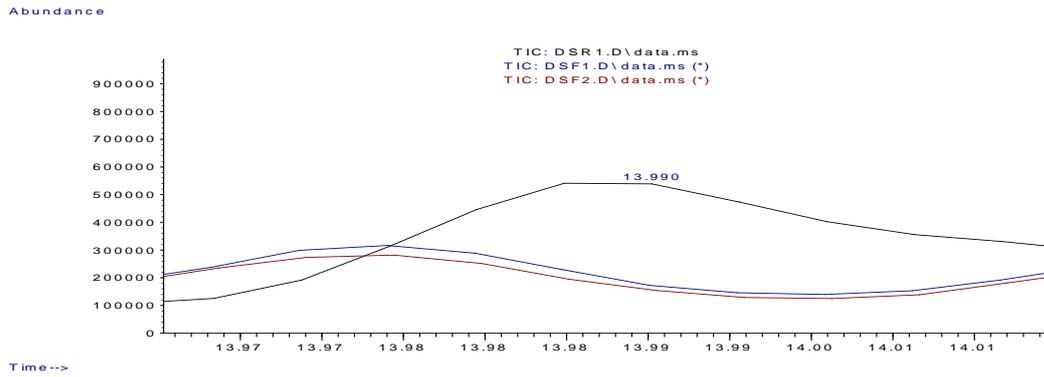


Figura 34: Cromatograma ampliado da cerveja *DARK STRONG* na região de identificação do composto Cariofileno. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul e vermelho as replicatas da amostra filtradas de *Dark Strong*.

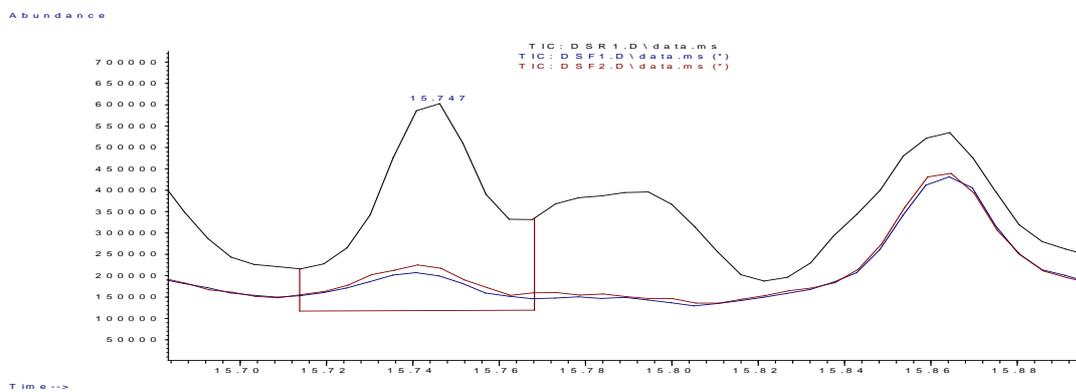


Figura 35: Cromatograma ampliado da cerveja *DARK STRONG* na região de identificação do composto (Z)-5-Pentadecen-7-ina. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul e vermelho as replicatas da amostra filtradas de *Dark Strong*.

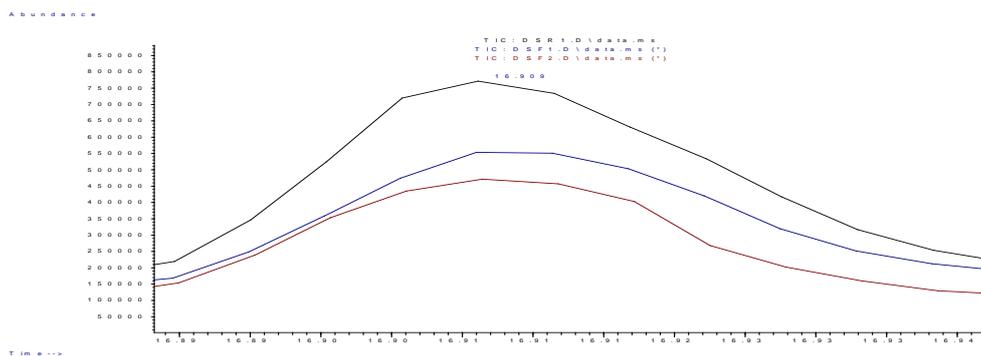
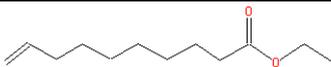
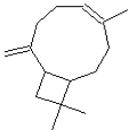
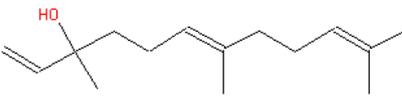
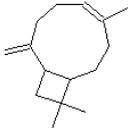
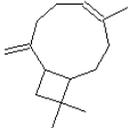
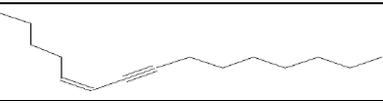


Figura 36: Cromatograma ampliado da cerveja *DARK STRONG* na região de identificação do composto 1-Tetradecanol. Em preto o cromatograma da cerveja comercial, em azul e vermelho as replicatas da amostra filtradas de *Dark Strong*.

Os tempos de retenção, a fórmula estrutural e a percentagem de área fornecidos pelo *software Data Analysis* dos compostos apresentados anteriormente nas respectivas cervejas estão resumidos na Tabela 9 (p. 57).

Tabela 9: Resumo dos compostos ausentes nas cervejas filtradas.

Cerveja	Composto	Fórmula estrutural	Tempo de retenção	% Área
Blondie	9-decenoato de etila		13,411	1,681
	Cariofileno		13,981	0,287
	Nerolidol		15,642	0,268
BABA ESB	Hexanoato de etila		7,880	0,195
	Cariofileno		13,983	0,092
Dark Strong	Cariofileno		13,990	0,101
	(Z)-5-Pentadecen-7-ina		15,747	0,072
	1-Tetradecanol		16,909	0,086

Fonte: *National Institute of Standards and Technology 2008 (NIST).*

O único composto com porcentagem área maior que 1,000 é o 9-decenoato de etila, éster detectado também em vinhos, mas ainda não há descrição de aroma na literatura (SOUZA, 2010). Esse composto está presente apenas na cerveja Blondie.

O composto cariofileno, identificado como alteração em todas as amostras filtradas, corresponde a um isômero do humuleno, proveniente do lúpulo. Suas características aromáticas ainda não são descritas na literatura.

O composto nerolidol encontra-se relatado em identificação de compostos voláteis em amostras de vinhos, sem identificação de características aromáticas (NICOLLI, 2013).

O hexanoato de etila, ausente nas cervejas Baba ESB filtradas, foi identificado na literatura como um éster presente em amostras de espumantes com aroma frutado, morango e doce (SOUZA, 2010).

Pode-se afirmar que os compostos ausentes nas cervejas filtradas, por estarem em baixas concentrações em relação aos compostos voláteis da cerveja comercial, tenham sido perdidos por volatilização durante a microfiltração ou coleta da amostra.

Os compostos provenientes da purga da cerveja, que foram identificados no filtrado e não corresponderam à composição da cerveja comercial, foram avaliados em relação à concentração e ao efeito sensorial. A porcentagem área, em relação aos compostos voláteis, esteve abaixo de 0,418 %, vale verificar se podem favorecer alterações sensoriais.

4.6. Análise Sensorial

Os degustadores não tiveram acesso a nenhum dos resultados anteriores, avaliando somente as cervejas microfiltradas em comparação com as cervejas comerciais.

A utilização do PF possibilita a obtenção de resultado rápido para análise sensorial e uma boa discriminação entre as amostras. Entretanto, exige avaliadores experientes.

Devido à limitação de tempo, não foi possível realizar o tratamento estatístico recomendado para esse tipo de análise. O perfil considerado foi aquele construído à partir da reunião das informações coincidentes dos avaliadores.

4.6.1. BABA ESB 1, 2 e 3

Não foram observadas alterações sensoriais além das que ocorreram como fruto da oxidação. O aspecto visual mostrou uma translucidez bem maior que a amostra comercial (não filtrada). Percebeu-se, também, um brilho mais intenso na amostra filtrada, valorizando a beleza da cerveja. Não foram encontrados traços de levedura, tampouco refermentação. Portanto, os aspectos visuais observados mostram que as amostras filtradas apresentam ganho de qualidade.

4.6.2. Belgian Dark Strong

Apresentou aroma intenso maltado, doce moderado, frutado moderado remetendo à tâmara e ameixa. Com aparência marrom com feixes vermelhos e límpida.

Sabor maltado intenso interrompido por um solvente rápido, não persistente. Em segundo plano, dulçor persistente com frutado de ameixa. Floral não evidenciado na versão não filtrada. Amargor herbal, típico do lúpulo utilizado na receita, mais evidente do que na versão original. Houve redução do sabor de levedura existente na versão original, alterando o equilíbrio de sabores. O álcool ficou evidente, porém sem prejuízo para o equilíbrio. O apimentado ficou bem mais evidente do que na versão original.

Sensação na boca: corpo médio a intenso, como na versão original.

4.6.3. Blondie

Aroma de lúpulo cítrico bem mais evidente do que na versão não filtrada, apresentando muito bem a variedade do lúpulo utilizado. Malte em segundo plano com destaque para biscoito. Ao girar tampado fica evidente leve fenólico que remete à cravo, muito leve.

Apresentou dourado bem límpido, claro, não remetendo à nenhuma semelhança com a versão não filtrada, que possui grande turbidez, devido à grande presença de trigo.

Sabor de malte, biscoito, trigo, nessa ordem, seguido pelo amargor persistente com leve sabor apimentado que fica evidente à medida que seguem os próximos goles. Esse último sabor não é percebido na versão não filtrada. Aparentemente esse sabor parece ser de origem do lúpulo.

Sensação na boca: Corpo baixo, tal qual a versão original. Ausência de adstringência, carbonatação (esperado para o teste).

Impressão geral: A cerveja manteve a maior parte das características sensoriais da versão original, exceto a aparência, que ficou muito melhor e o amargor que parece ter ficado mais evidente. O aroma de lúpulo ficou muito melhor.

Conclui-se que a microfiltração ressaltou alguns aromas e sabores que apresentavam interferência devido a presença de sólidos suspensos e leveduras, em todas as amostras. Não foram detectados compostos prejudiciais à cerveja derivados da autólise ou do contato prolongado com as leveduras mortas.

CONCLUSÃO

Objetivando a redução de perdas durante processo de produção de cerveja em cervejarias de pequeno porte, o presente trabalho propôs a substituição de processos de alto custo de filtração e pasteurização pelo PSM. Foram avaliados compostos químicos interligados às características de aroma, cor, turbidez e concentração de sólidos, com a finalidade de comprovar a preservação da qualidade química e sensorial da cerveja recuperada do fundo de dorna de maturação por meio do PSM.

As análises por FTIR não identificaram qualquer alteração nas cervejas na região de impressão digital. Tal região comprova a qualidade da cerveja microfiltrada em relação a dextrinas, etanol e maltose.

As análises por SPME e GC-MS detectaram a ausência de sete compostos nas cervejas filtradas. Isso pode ser associado à perda por volatilização, pois o sistema não era hermeticamente fechado.

Foram detectados, também, nas cervejas filtradas, compostos diferentes da cerveja comercial. Essas substâncias podem ser originárias do contato prolongado com as leveduras mortas, porém a concentração das mesmas foi considerada muito baixa, não detectáveis ao paladar.

A análise sensorial comprova que a cerveja microfiltrada não apresentou alterações em relação ao aroma e sabor da amostra comercial. Houve aprimoramento da cor, translucidez e brilho da cerveja, além de alguns aromas terem sido intensificados devido à ausência de interferentes provenientes das leveduras e sólidos suspensos. Porém, é necessário um tratamento estatístico e uma avaliação sensorial por ADQ (Análise Descritiva Qualitativa) para fundamentar os resultados relatados neste trabalho.

Ainda foi comprovado que os compostos provenientes do contato prolongado com as leveduras não apresentaram concentração suficiente para detecção pelo paladar.

Pode-se concluir que a microfiltração por membranas garantiu uma separação eficiente da cerveja em relação aos sólidos suspensos, preservando a qualidade química e físico-química do produto.

O processo proporcionou a retenção dos compostos indesejáveis e causadores da turbidez, aprimorando as características visuais da cerveja, reduziu a concentração de sólidos e garantiu a presença dos compostos responsáveis pelo aroma e sabor da cerveja.

Afirma-se, então, que a aplicação do processo de microfiltração de cerveja para a recuperação do fundo de dorna de maturação, é aplicável industrialmente quanto à garantia da qualidade da cerveja. Tal etapa não pode ser efetuada pelo processo convencional devido à alta concentração de sólidos.

A vazão do fluxo permeado deve-se a elevada concentração de sólidos e ao baixo número de Reynolds, utilizado devido a limitações no sistema de microfiltração.

Para a substituição dos processos convencionais de filtração, é necessário o aprimoramento operacional, aumentando a vazão do fluxo permeado e minimizando o fenômeno de incrustação.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, sugere-se o prosseguimento com os testes de avaliação da eficiência do PSM, além da otimização do sistema operacional em busca de situações aplicáveis para implantação industrial.

Deve ser fabricado e avaliado um protótipo de microfiltração de cerveja, prevendo a situação real. Tal situação proporcionaria a melhora na eficiência do sistema e poderia confirmar a aplicabilidade do PSM na indústria cervejeira.

Podem ser avaliadas outras membranas estudadas para os processos de microfiltração industrial, otimizando e garantindo a conservação da qualidade dos produtos microfiltrados.

A análise microbiológica pode ser realizada para confirmação da estabilidade microbiológica da cerveja, pois o sistema só poderá substituir a filtração convencional e pasteurização da cerveja se garantir a estabilidade microbiológica e aumentar o tempo de prateleira.

Deve-se analisar sensorialmente, utilizando-se métodos como ADQ, traçando um perfil detalhado das características das amostras.

Pode ser analisada a alteração da composição química da cerveja microfiltrada em relação aos compostos não voláteis utilizando-se técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Pode ser verificada a alteração causada pela pasteurização, em comparação com o PSM, para confirmar se a substituição de processos convencional aumenta qualidade do produto.

A avaliação da viabilidade técnica e econômica é fundamental, para verificar a aplicabilidade do sistema de microfiltração de cerveja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICIEO, T. V. R. *et al.* Análise do uso da membrana cerâmica de 0,2 µm na clarificação de cerveja. *Acta Science Technology Maringá*, v. 30, n. 2, 2008. p. 181-186.
- ALMEIDA, C. I. R. Métodos Espectroscópicos Para o Estudo da Cerveja. Tese de Mestrado em Química e Qualidade dos Alimentos, Universidade de Aveiro, Departamento de Química: 2006.
- ANDRADE, R. R. de. Procedimento para o desenvolvimento de um modelo matemático robusto para o processo de fermentação alcoólica. Dissertação M. Sc., Universidade Estadual de Campinas, SP, 2007.
- AQUARONE, E. Biotecnologia na produção de alimentos. Coleção Biotecnologia Industrial, São Paulo: Blucher, 2001. v. 4.
- ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. Perfil Sensorial e Composição Físico-Química de Cervejas Provenientes de Dois Seguintes do Mercado Brasileiro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, maio-agosto, 2003. 23(2) p. 121-128.
- BIAZON, C.L. Utilização de Adsorventes Durante o Processo de Microextração em Fase Sólida de Flavours de cerveja. Porto Alegre – R.S. Fevereiro de 2008.
- BJCP, Diretrizes de Estilo para Cerveja do Beer Judge Certification Program, 2008. Disponível em bjcp.org/intl/2008styles-PT.pdf.
- BOAVENTURA, J. C. Otimização do processo de filtração de cerveja. Tese de mestrado integrado. Engenharia Química. Faculdade de Engenharia. Universidade do Porto. 2009.
- CANCELLARA, W.R. Introdução à filtração de cervejas. *Revista Meio Filtrante*. Ano III, Edição nº 10, p. 18-23, 2004.
- DAIROU, V. and SIEFFERMANN, J.-M. A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, flash profile. *Journal of Food Science*, 67 (2002), pp. 826–834.
- DOMINGUES, R. C. C. Clarificação do Suco de Maracujá por Microfiltração: Análise Experimental e Modelagem Matemática. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2011.

DUTCOSKY, S. D. Análise Sensorial de Alimentos. 4ª edição rev. e ampl., PUCPRESS - Curitiba, 2013.

EI RAYESS, Y.; ALBASI, C.; BACCHIN, P.; TAILLANDIER, P.; MIETTON-PEUCHOT, M.; DEVATINE, A. Cross-flow microfiltration of wine: Effect of colloids on critical fouling conditions. J. Membr. Sci., 2011, 385-386 (0): 177-186.

ESTRACANHOLLI, E. S. Quantificação Óptica de Carboidratos e Etanol em Mosto Cervejeiro. Tese de Doutorado em Ciências, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2012.

FRANÇA NETA, L. S. Clarificação de bebidas fermentadas utilizando o processo de microfiltração. Dissertação de M.Sc., Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, 2005.

FRANÇA NETA, L. S., HABERT, Alberto Cláudio, BORGES, Cristiano Piacsek. Cerveja Microfiltrada: Processo e Qualidade, Brazilian Journal of Food Technology, 5º SIPAL, março de 2005.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; GAVA J. R. F. Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2008.

LAMÊGO, C. Panorama do Setor de Cervejas Artesanais em Minas Gerais. SINDBEBIDAS, FIEMG. Fevereiro, 2014.

Le, M. S. Recovery of Beer from Tank Bottoms whit Membranes. Journal of Chemical Technology Biotechnology. 1987, 37, 59-66.

MACHADO, A. M. de R. Carbamato de etila, acroleína e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos: caracterização e quantificação em cachaças provenientes de cana-de-açúcar com adubação nitrogenada e acondicionadas em vidros e "bombonas" de Pead. 2010. 269 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MORÉS, S. Determinação de compostos voláteis em cachaça por microextração em fase sólida. 2009. 61 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MULDER, M. J. Basic Principles of Membrane Technology. Kluwer Academic Publishers. 2nd ed. 1996. 564p.

NICOLLI, K. P. Estudo dos Componentes Voláteis de Vinhos Espumantes Moscatéis através do Emprego de Microextração em Fase Sólida e

Cromatografia Gasosa. Dissertação M.Sc. em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SCHENEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. *Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reuso*. 1^o edição. São Paulo: ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária Ambiental. 2001. 324 p.

SILVA, P. H. A. da; FARIA, F. C. de. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, out.-dez. 2008. p. 902-906.

SILVA, D. E. S. Síntese e Caracterização de Membranas Condutoras Híbridas baseadas em poli (éter imida) para uso em Célula a Combustível. Tese de Doutorado em Engenharia Química. Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2011.

SILVA, Gisele Chaves da. Desenvolvimento de método para identificação de “off-flavours” em cerveja. Dissertação - (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. *Fundamentos de Química Analítica*, Tradução da 8^a ed. Norte-Americana, Thomson Learning Ltda, 2006.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE C. B. *Química Orgânica 1*. 9^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009.

SOUZA, A. L. da C. *Uso de Metodologias Combinadas de Análise Sensorial e Químico-Analíticas para Controle de Qualidade de Vinhos Espumantes Nacionais*. Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, 2010.

STRATHMANN, A. “Membrane Separation Processes: Current Relevance and Future Opportunities”, *AIChE Journal*, v. 47, n.5, pp. 1077-1087, 2001.

TAYLOR, M., FARADAY, D.B.F., O'SHAUGHNESSY, C.L., UNDERWOOD, B.O., REED, R.J.R. Quantitative determination of fouling layer composition in the microfiltration beer. *Separation and Purification technology*. n. 22-23, p. 33-142, 2001.

TONET, A. *Avaliação de Quatro Leveduras para a Produção de Espumante pelo Método Champenoise*. Monografia, Tecnologia em Viticultura e Enologia, Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves, RS, 2007.

TROMMER, M. W. Avaliação do Processo Produtivo da Cerveja com Abordagem de Ciclo de Vida. 2014.

VIEIRA, A. F. C. S. Aplicação de Métodos Quimiométricos aos Resultados de Técnicas Hifenadas para Caracterização da Aguardente de Cana-de-açúcar de Cabo Verde. 2007. 81 p. Tese (Mestrado em "Métodos Instrumentais e Controlo da Qualidade Analítica") - Universidade de Aveiro, Aveiro.

WILLIAMS, A. A.; LANGRON, S. P. The use of free-choice profiling for the evaluation of commercial ports. *Journal of Science of Food and Agriculture*, v. 35, n. 5, p. 558, 1984.

YAZDANSHENASA, M., SOLTANIEHB M., et al. Cross-flow microfiltration of rough non-alcoholic beer and diluted malt extract with tubular ceramic membranes: Investigation of fouling mechanisms. *Journal of Membrane Science*. 2010 October; 362 (1-2): 306-316.

ANEXO I – Espectros FTIR

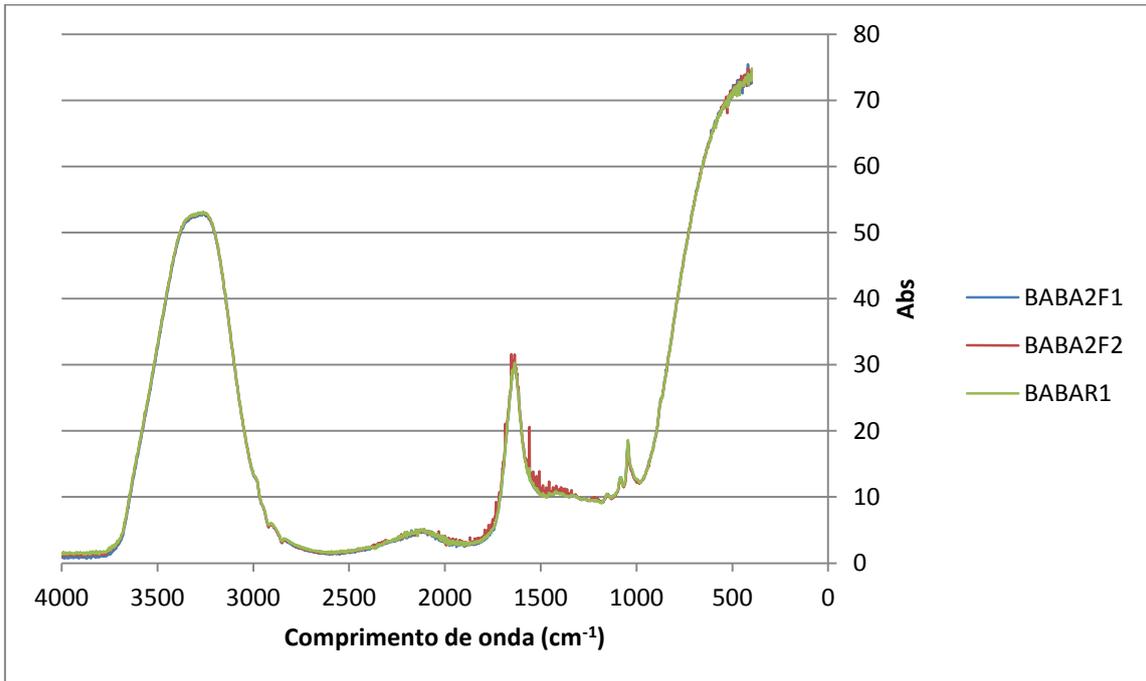


Figura 37: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 2.

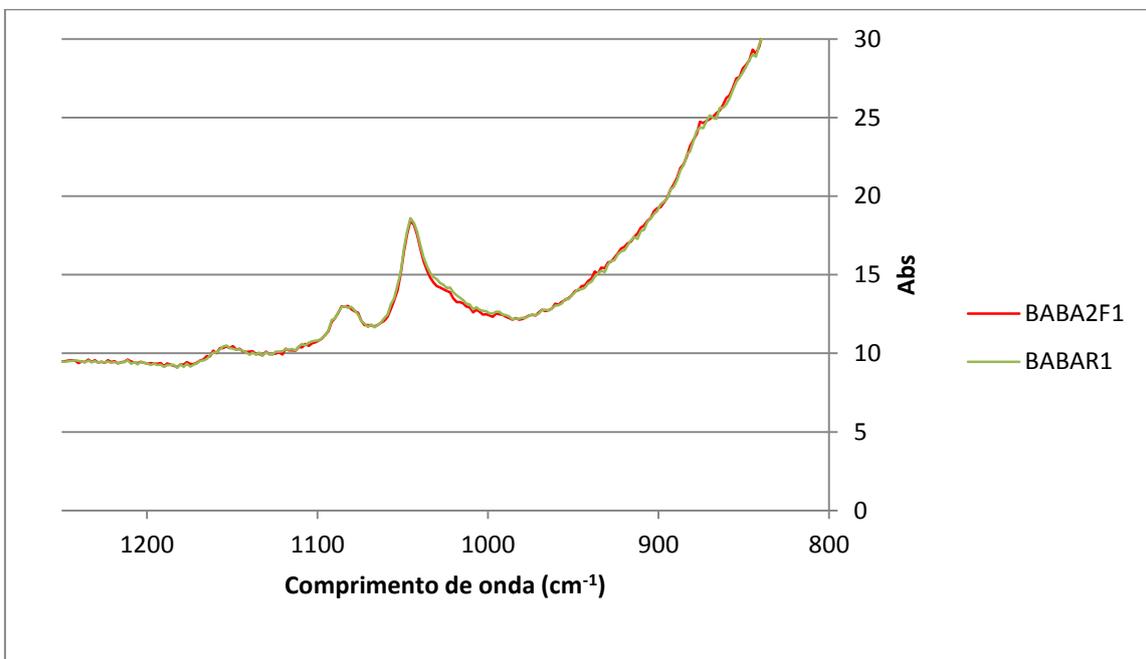


Figura 38: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 2 na região de impressão digital.

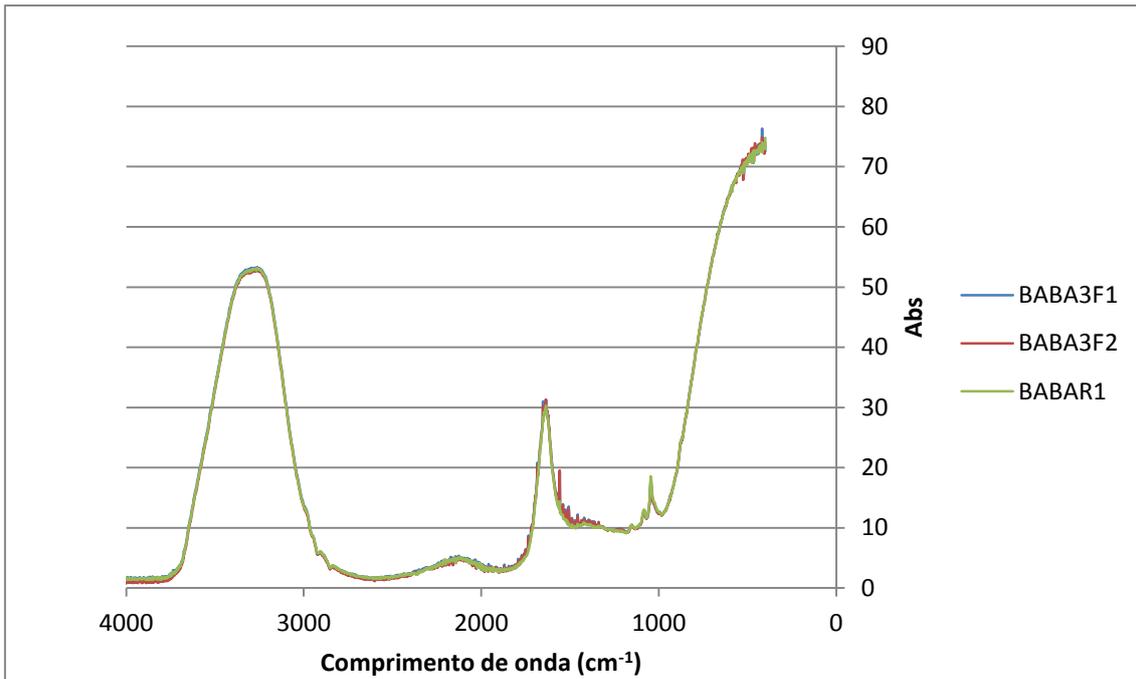


Figura 39: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 3.

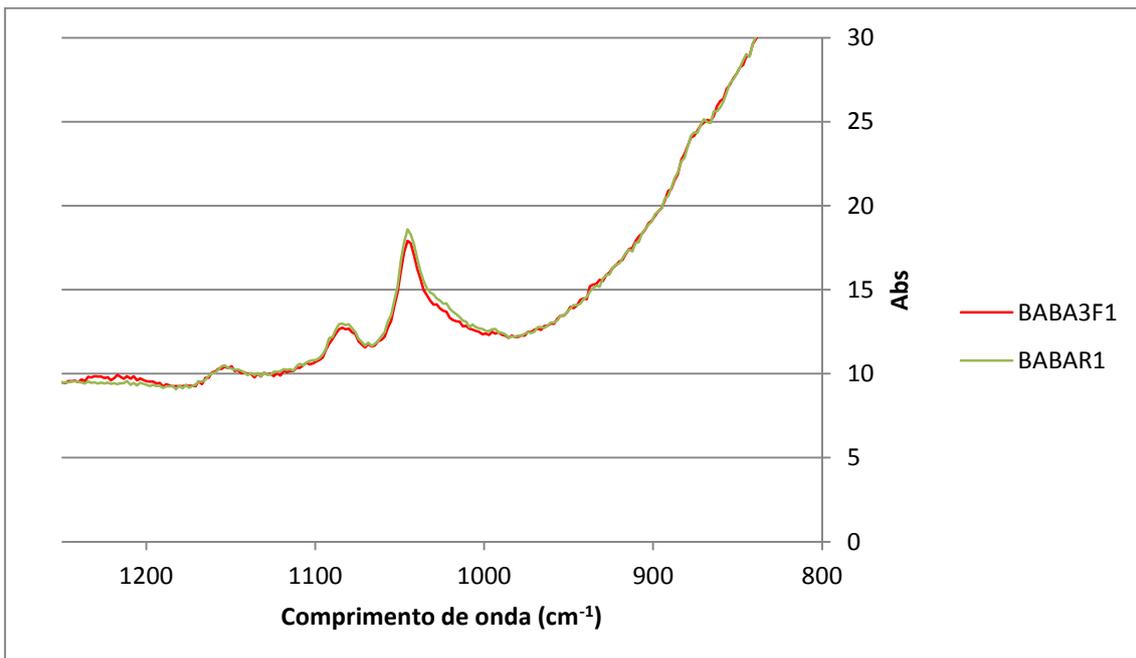


Figura 40: Sobreposição dos Espectros de FTIR BABA ESB 3 na região de impressão digital.

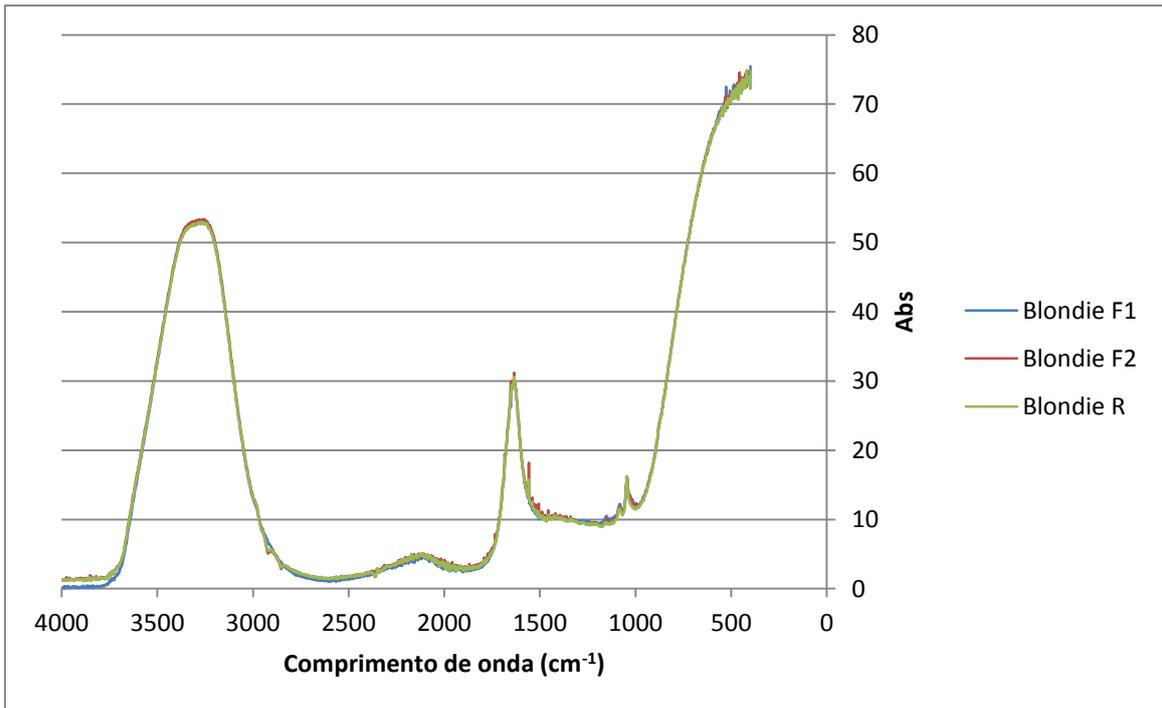


Figura 41: Sobreposição dos Espectros de FTIR Blondie.

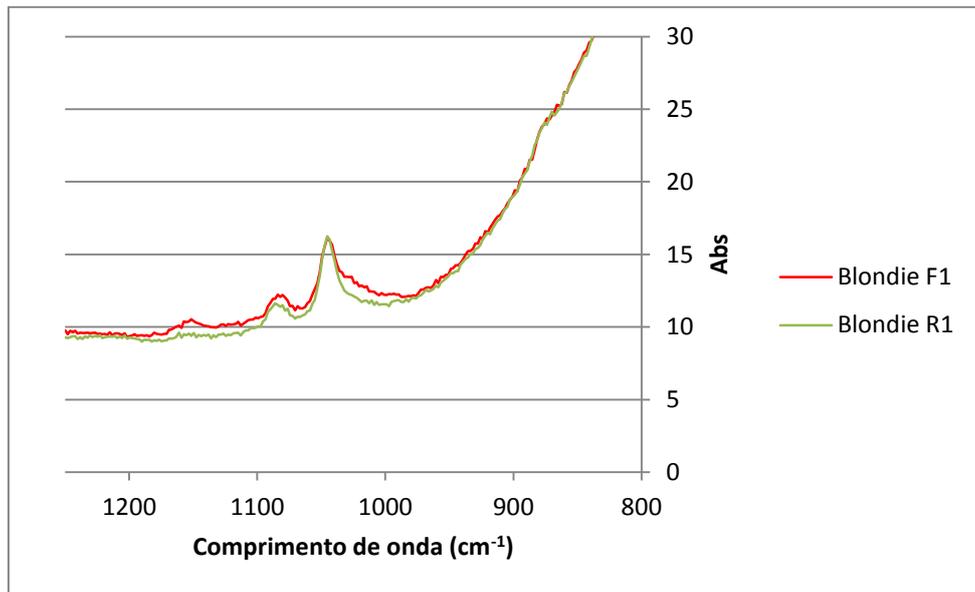


Figura 42: Sobreposição dos Espectros de FTIR Blondie na região de impressão digital.

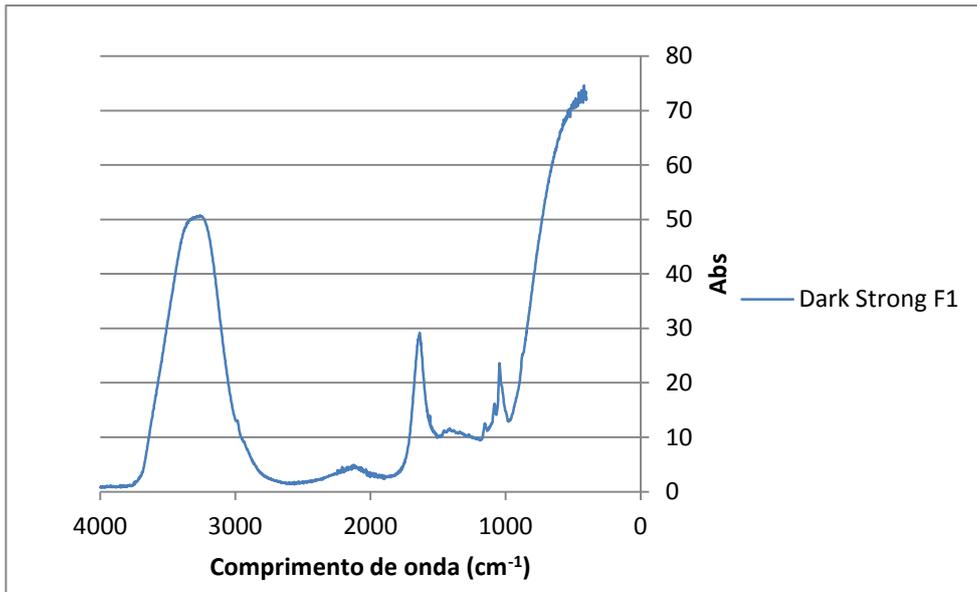


Figura 43: Sobreposição dos Espectros de FTIR Dark Strong.

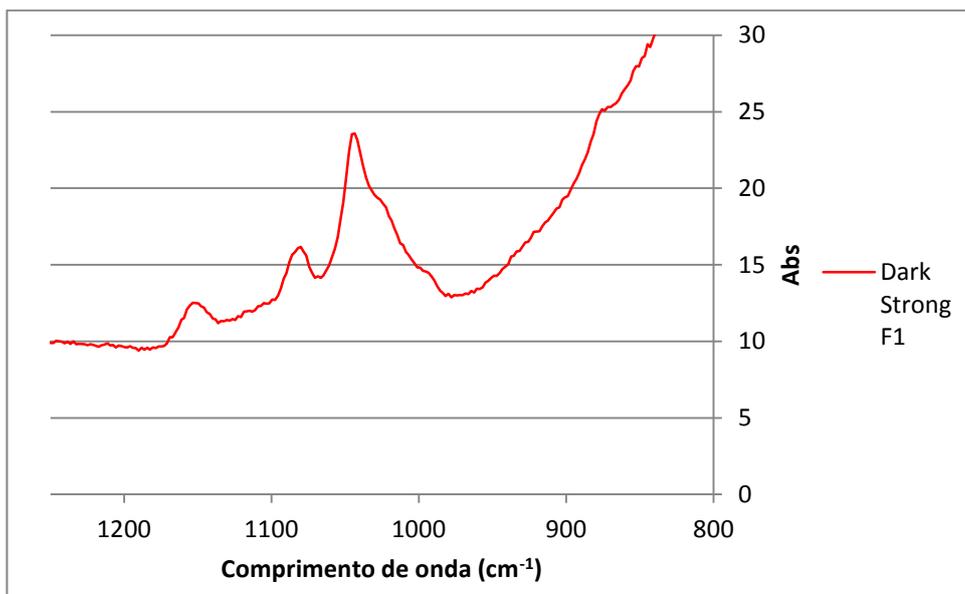


Figura 44: Sobreposição dos Espectros de FTIR Dark Strong na região de impressão digital.

ANEXO II – Cálculo do *Kovats*

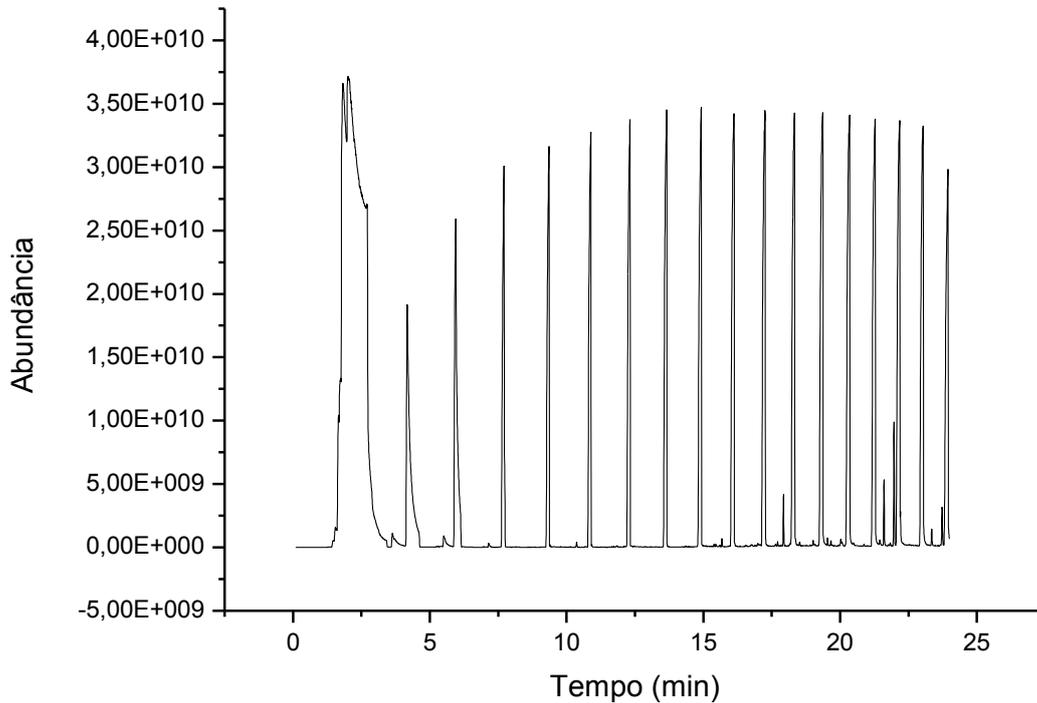


Figura 45: Cromatograma do Padrão de Hidrocarbonetos.

Tabela 10: Dados resumidos do cromatograma do padrão de hidrocarbonetos.

Número de Carbonos	KOVATS	TEMPO RETENÇÃO	LOG TEMPO RETENÇÃO
8	800	4,177	0,620864475
9	900	5,948	0,77437096
10	1000	7,711	0,887110703
11	1100	9,355	0,971043792
12	1200	10,886	1,03686833
13	1300	12,314	1,090399149
14	1400	13,656	1,135323508
15	1500	14,92	1,173768823
16	1600	16,118	1,207311151
17	1700	17,253	1,236864622
18	1800	18,332	1,263209849
19	1900	19,361	1,286927785
20	2000	20,343	1,308414999
21	2100	21,279	1,327951215
22	2200	22,176	1,345883213
23	2300	23,032	1,362331652
24	2400	23,939	1,379106005

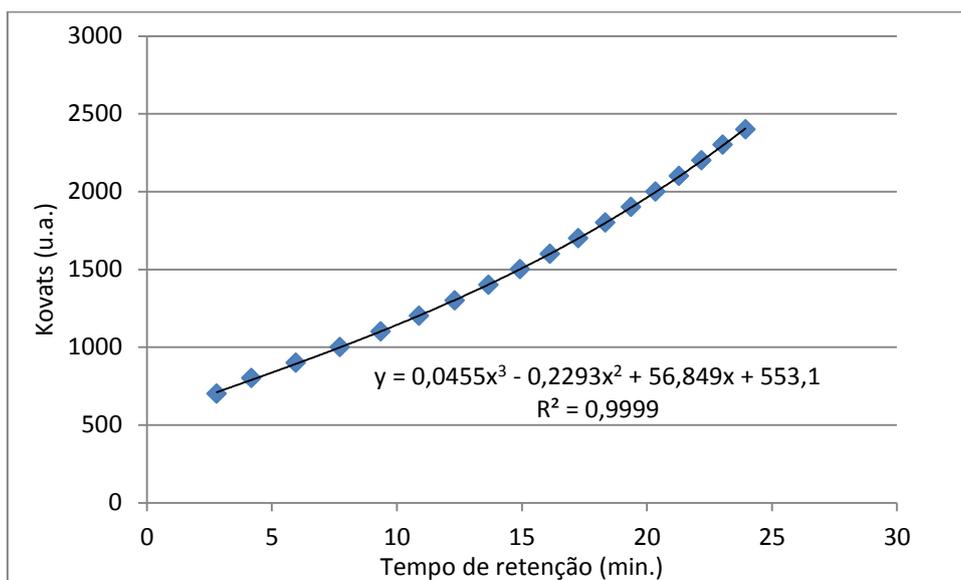


Figura 46: Gráfico do tempo de retenção pelo *kovats* do padrão de hidrocarbonetos.

ANEXO III – Cromatogramas

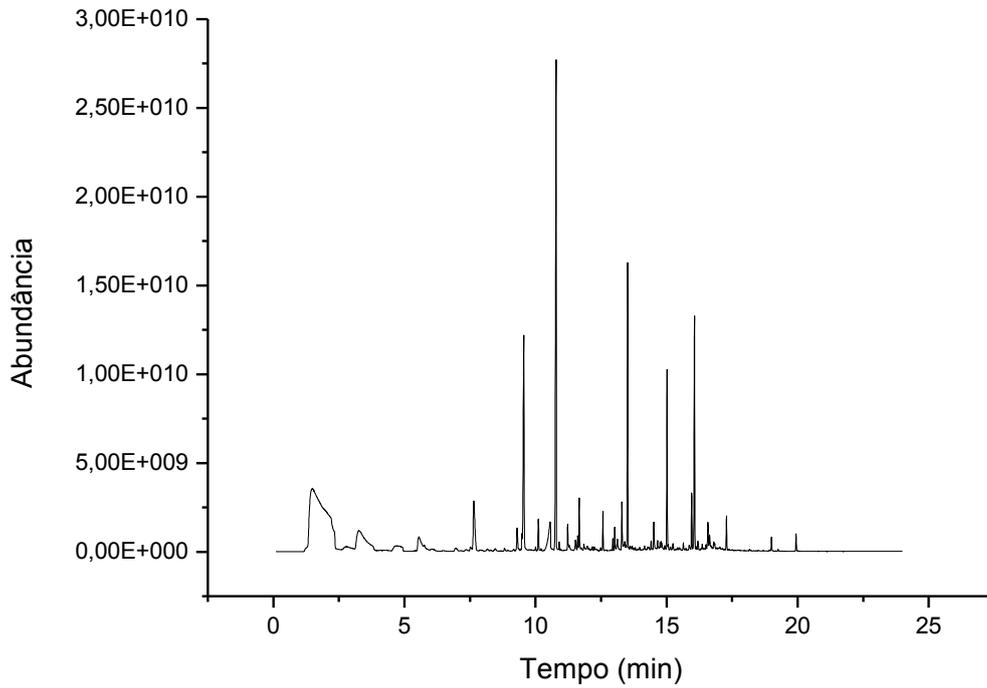


Figura 47: Cromatograma da Blondie Filtrada replicata 1.

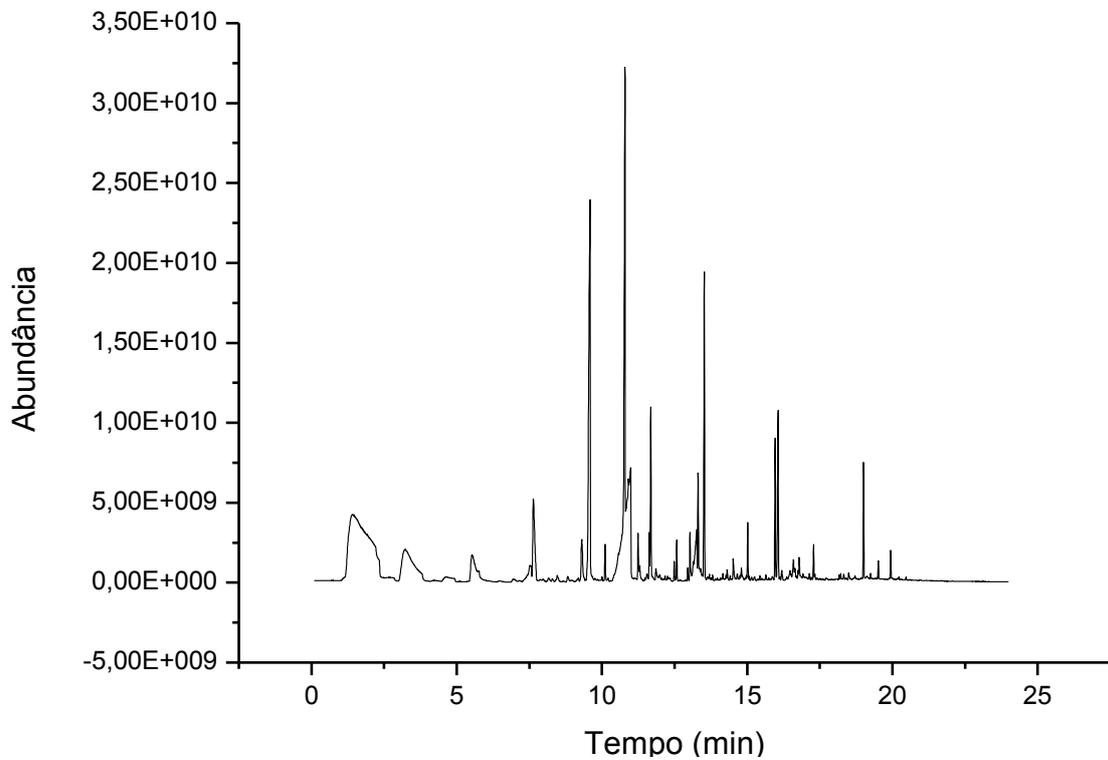


Figura 48: Cromatograma da Blondie Filtrada replicata 2.

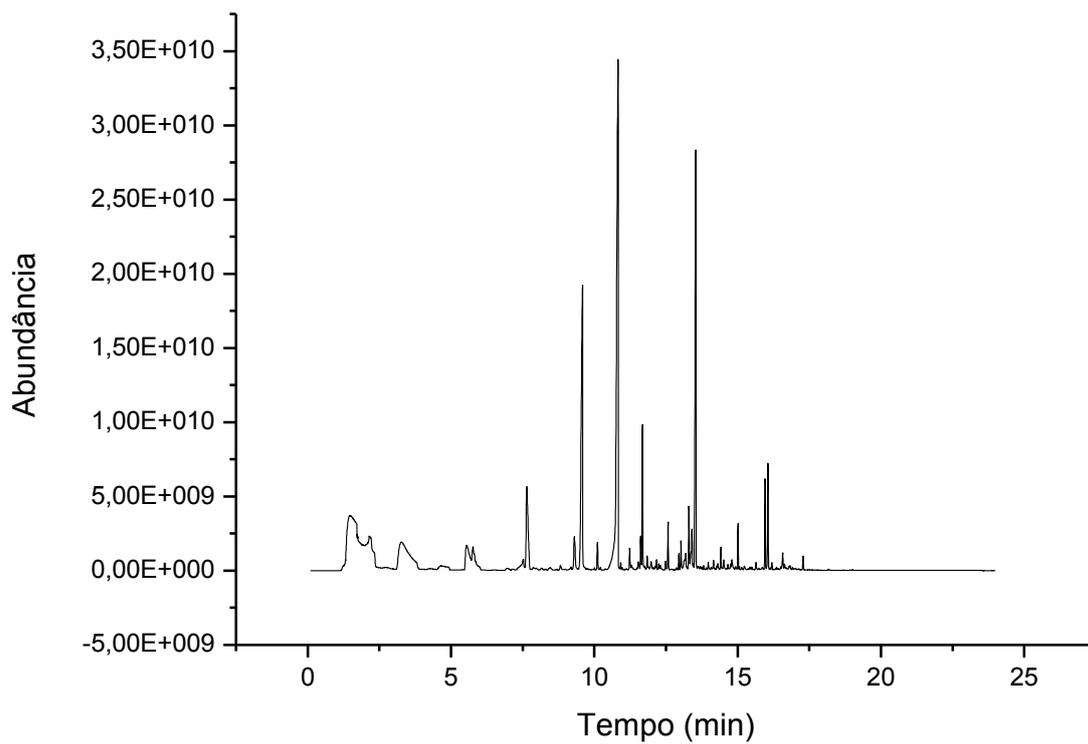


Figura 49: Cromatograma da Blondie Comercial replicata 1.

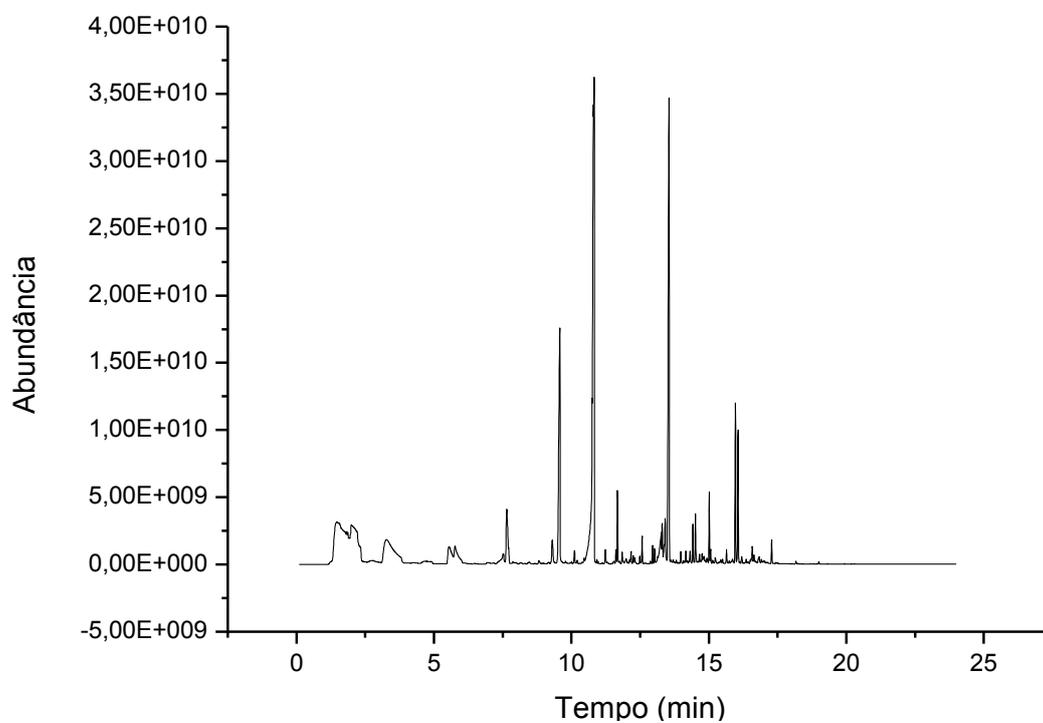


Figura 50: Cromatograma da Blondie Comercial replicata 2.

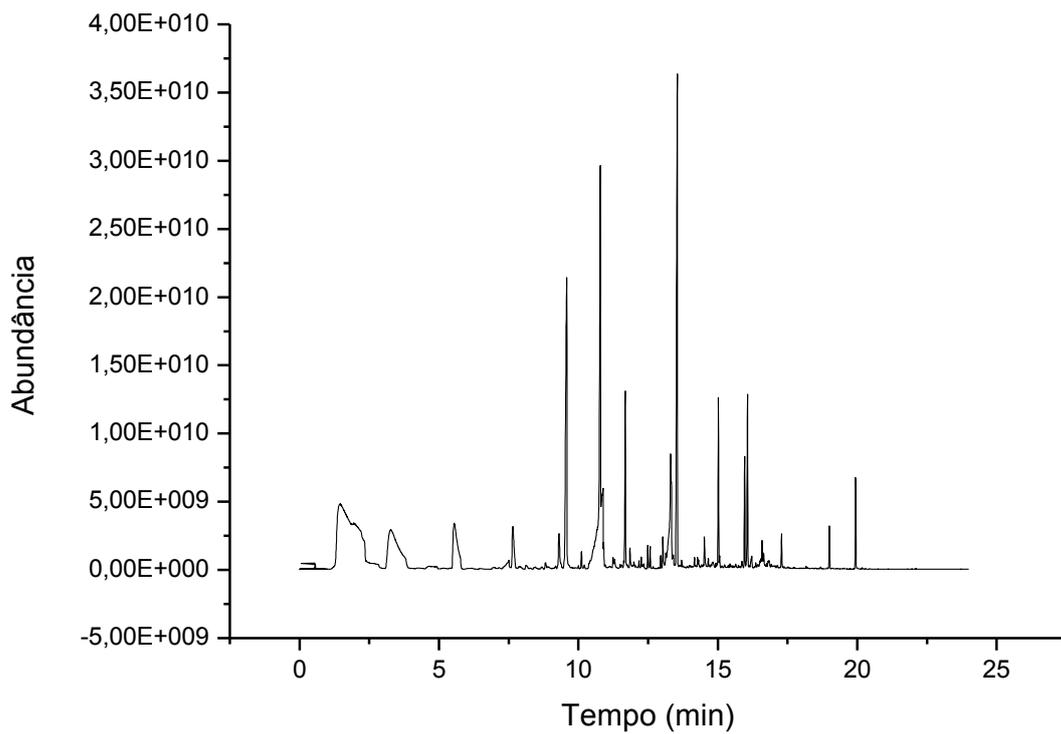


Figura 51: Cromatograma BABA ESB 1 replicata 1.

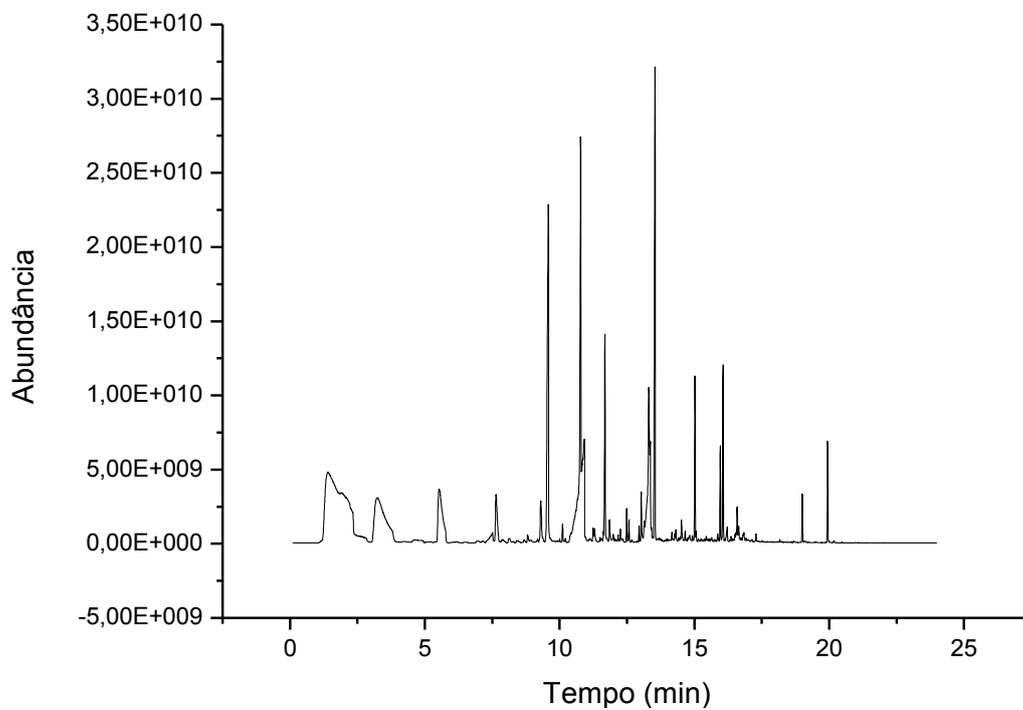


Figura 52: Cromatograma BABA ESB 1 replicata 2.

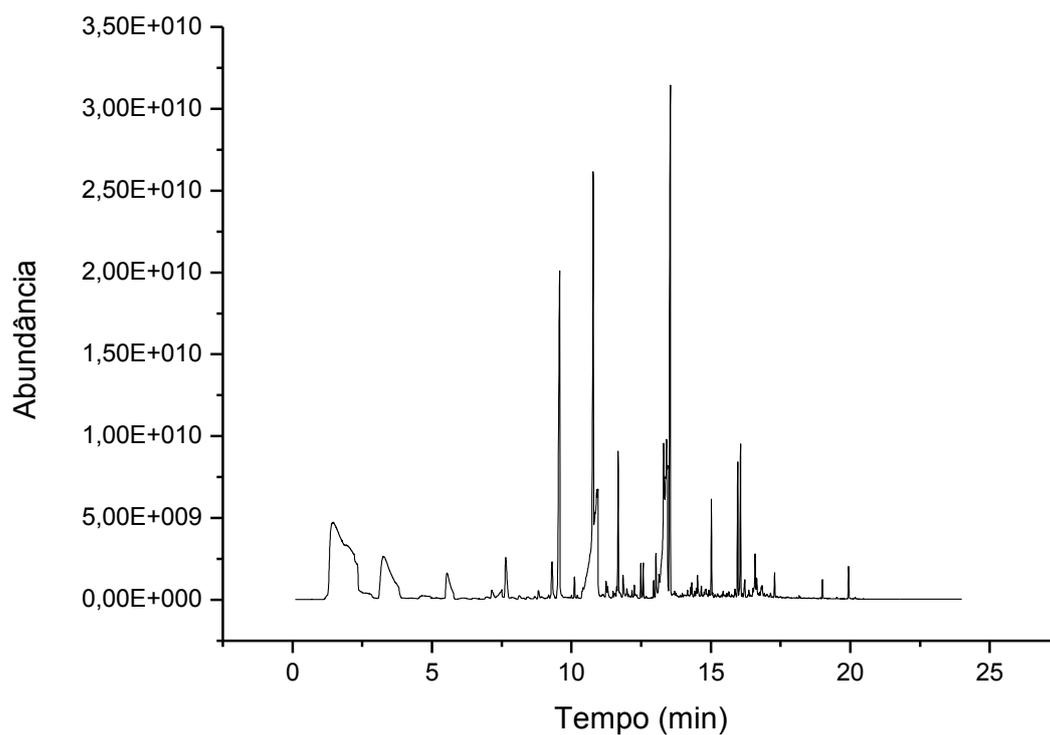


Figura 53: Cromatograma BABA ESB 2 replicata 1.

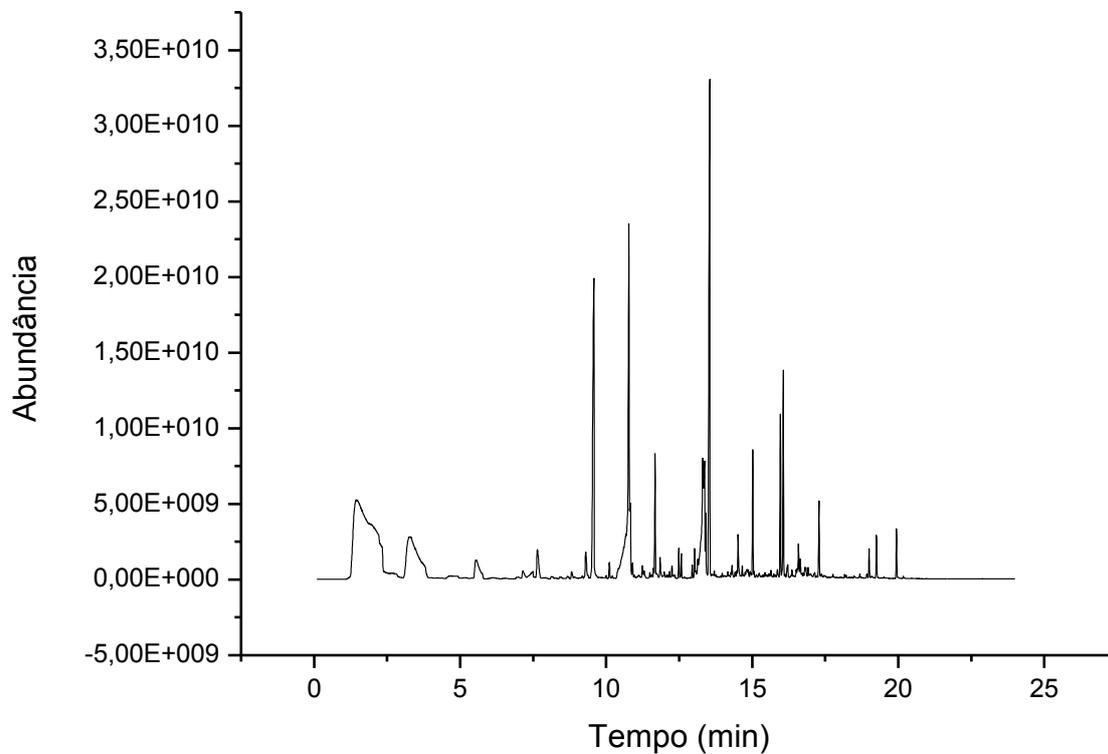


Figura 54: Cromatograma BABA ESB 2 replicata 2.

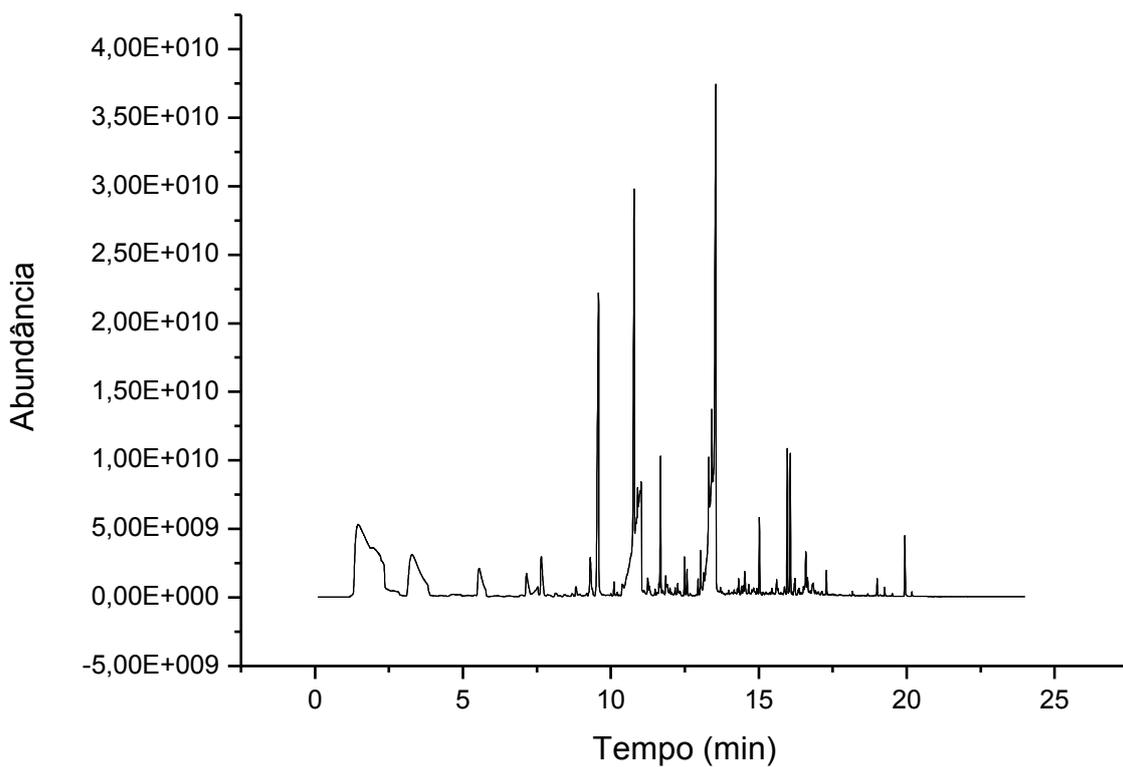


Figura 55: Cromatograma BABA ESB 3 replicata 1.

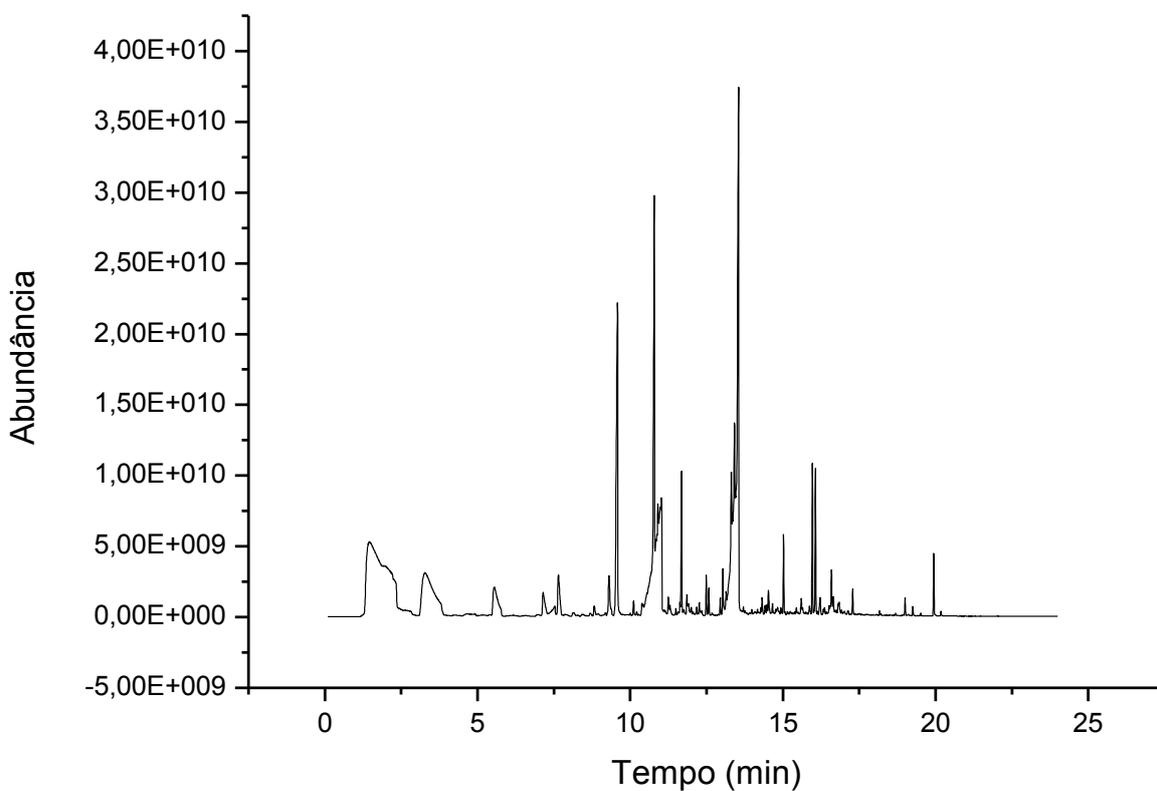


Figura 56: Cromatograma BABA ESB 3 replicata 2.

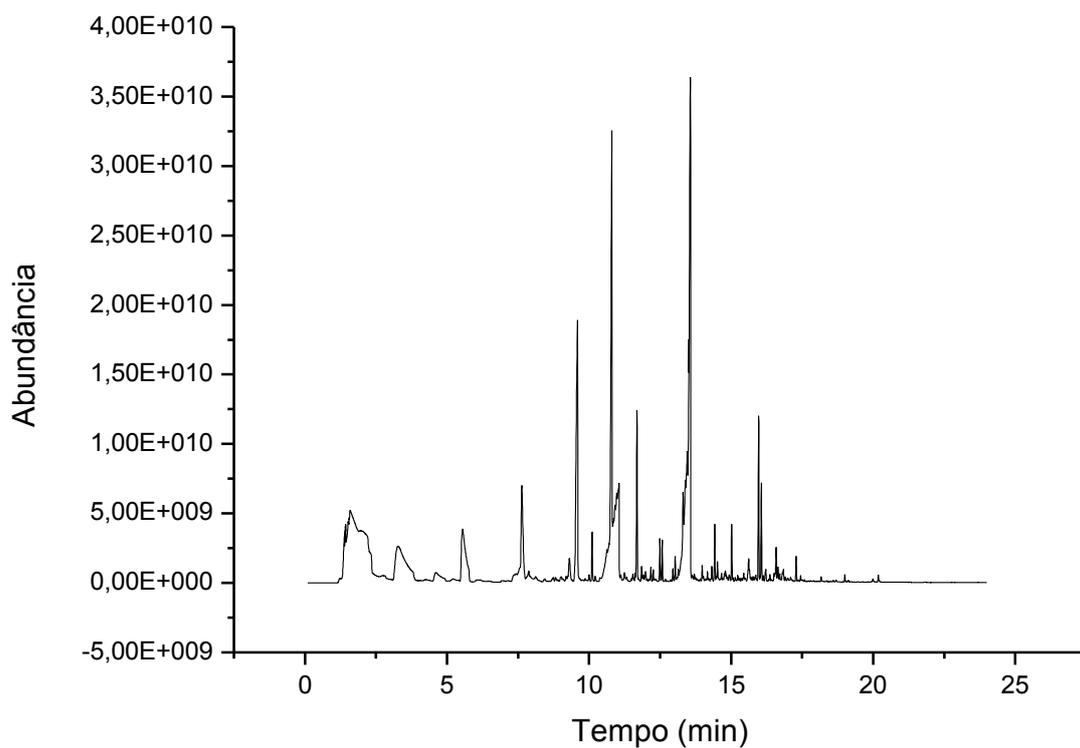


Figura 57: Cromatograma BABA ESB comercial replicata 1.

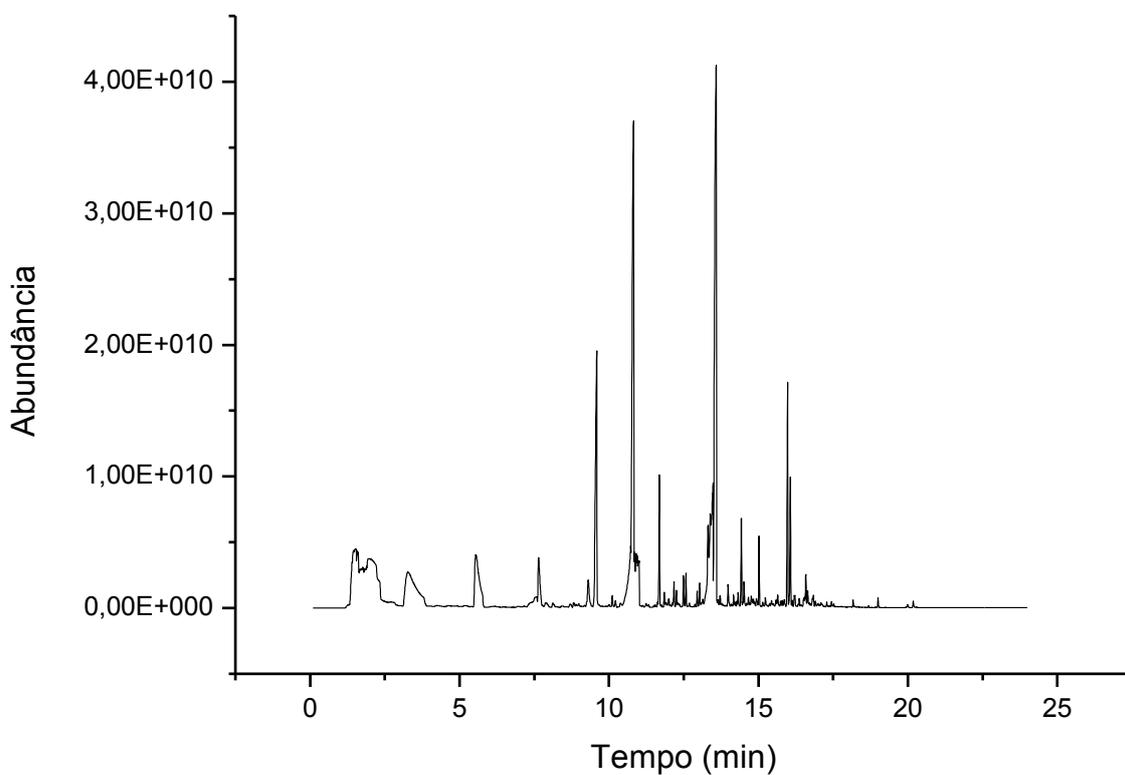


Figura 58: Cromatograma BABA ESB comercial replicata 2

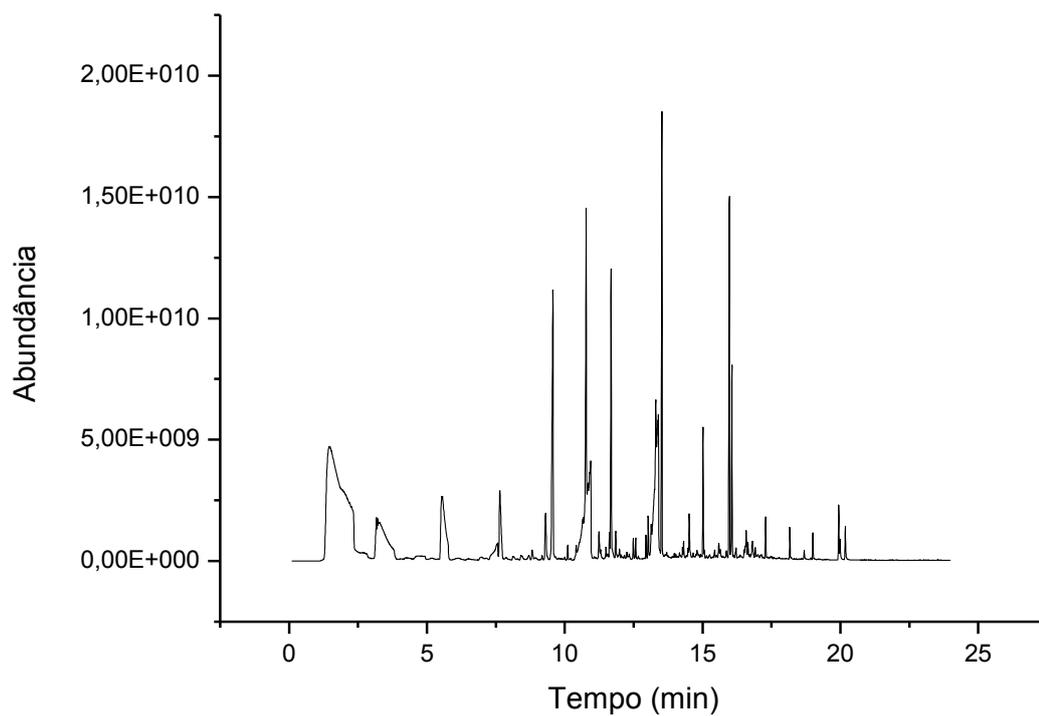


Figura 59: Cromatograma Dark strong filtrada replicata 1.

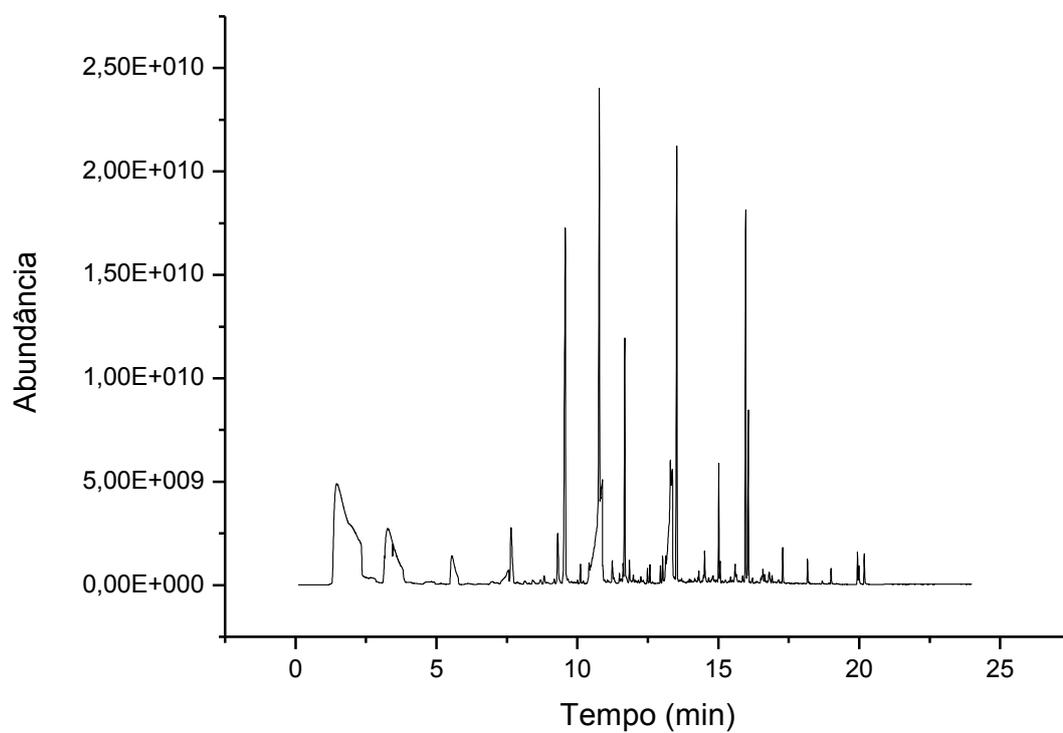


Figura 60: Cromatograma Dark strong filtrada replicata 2.

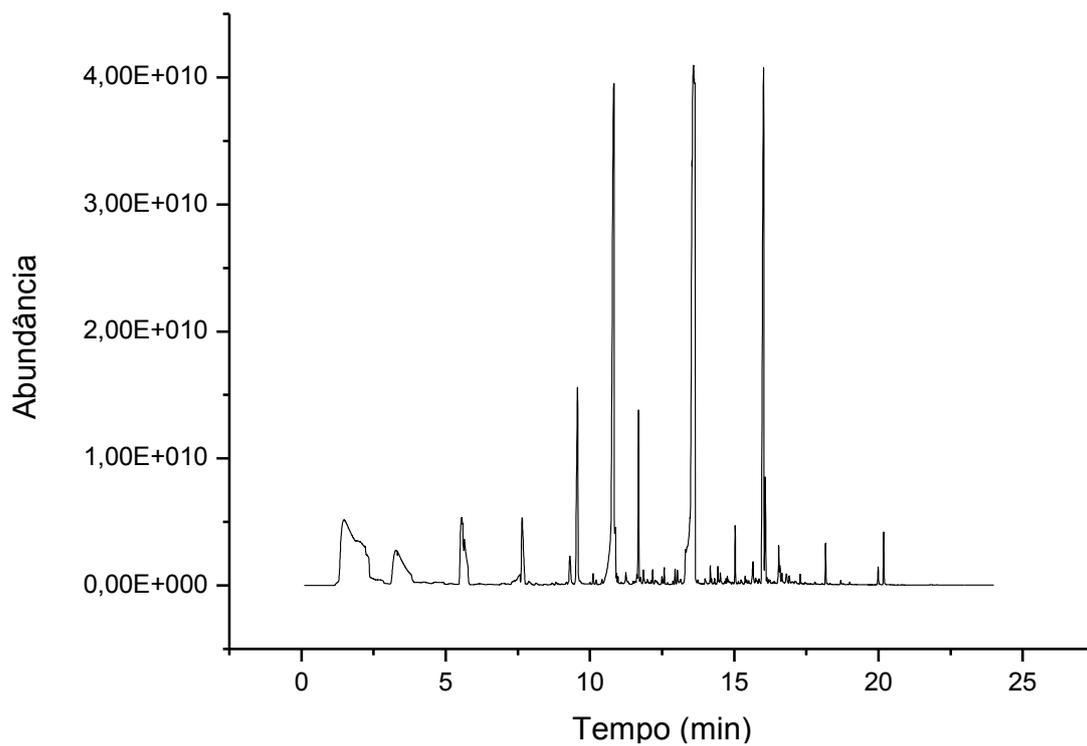


Figura 61: Cromatograma Dark Strong comercial replicata 1.

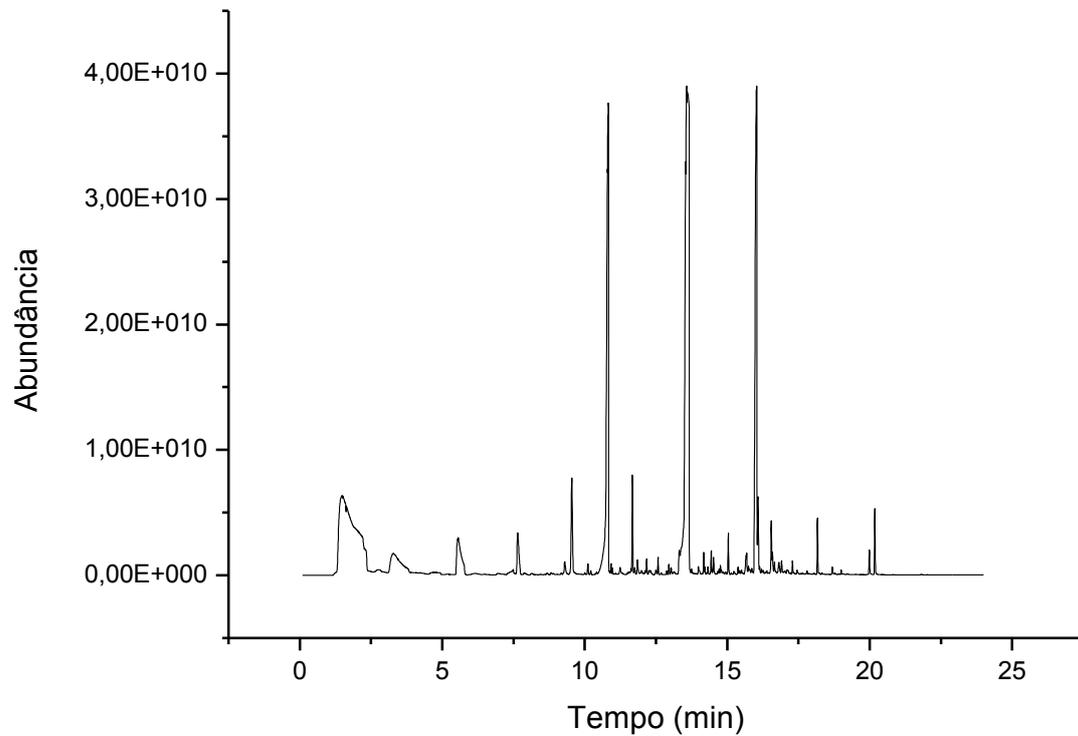


Figura 62: Cromatograma Dark Strong comercial replicata 2.

ANEXO IV – Comparação dos Cromatogramas

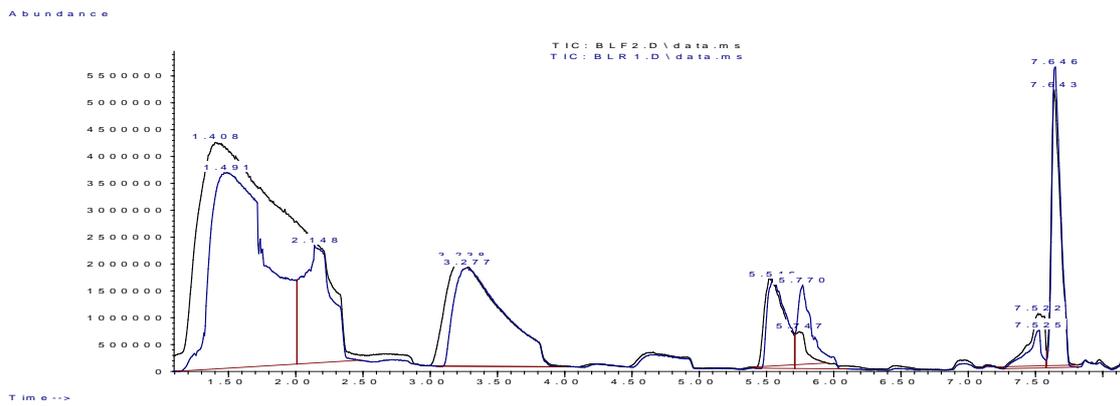


Figura 63: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 1.

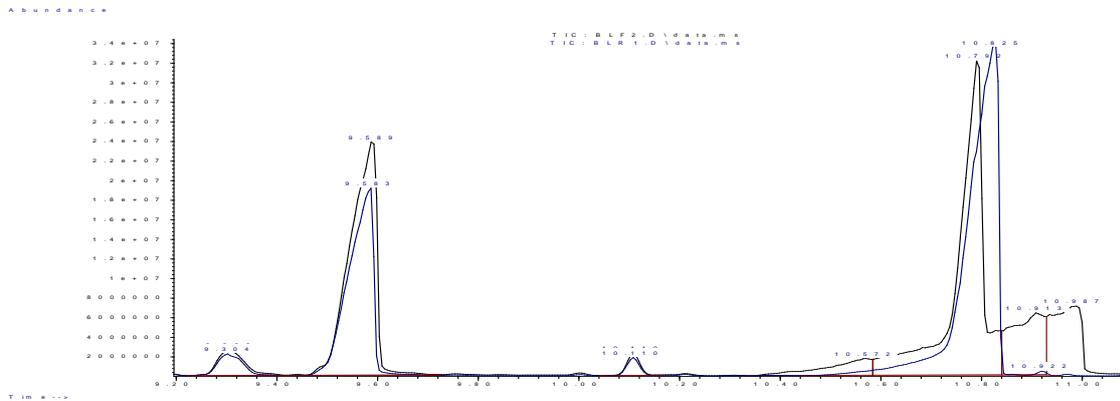


Figura 64: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 2.

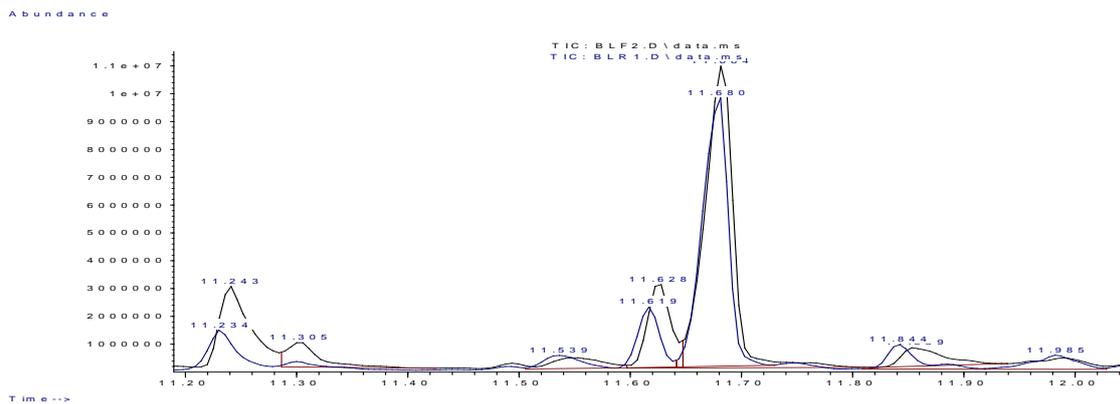


Figura 65: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 3.

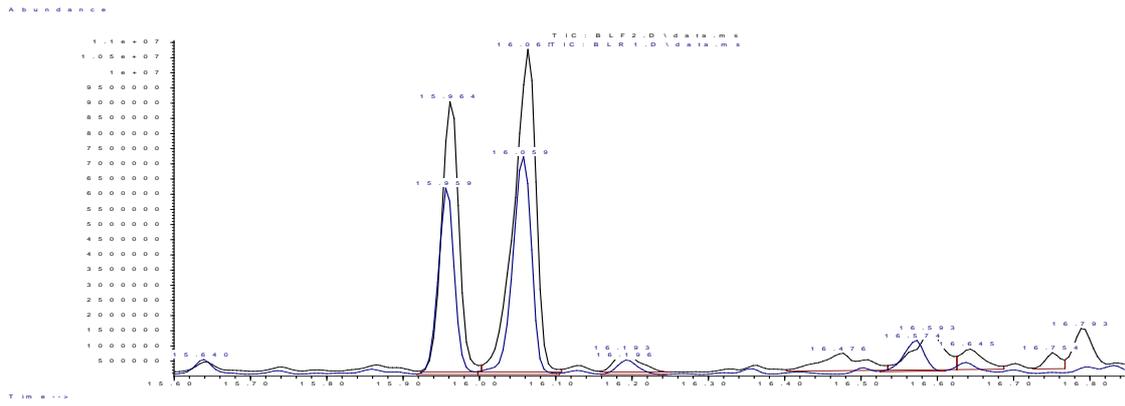


Figura 69: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 7.

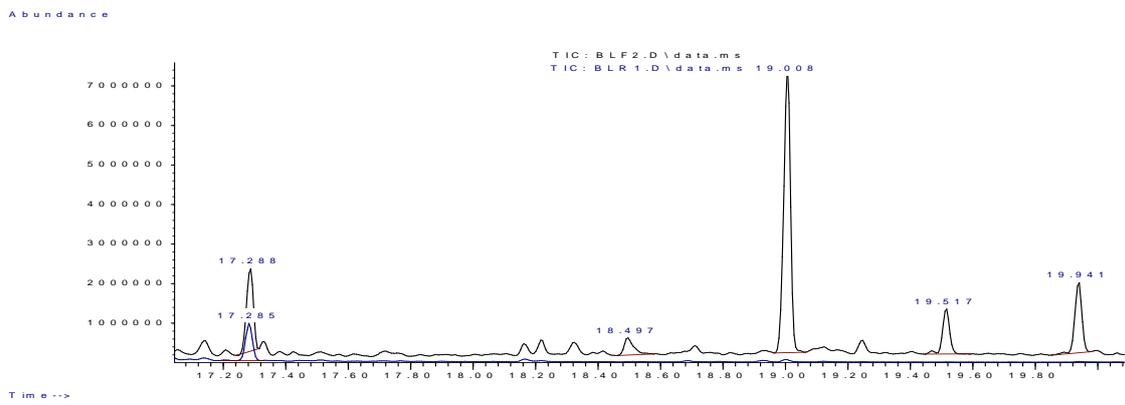


Figura 70: Comparação dos cromatogramas da cerveja Blondie 8.

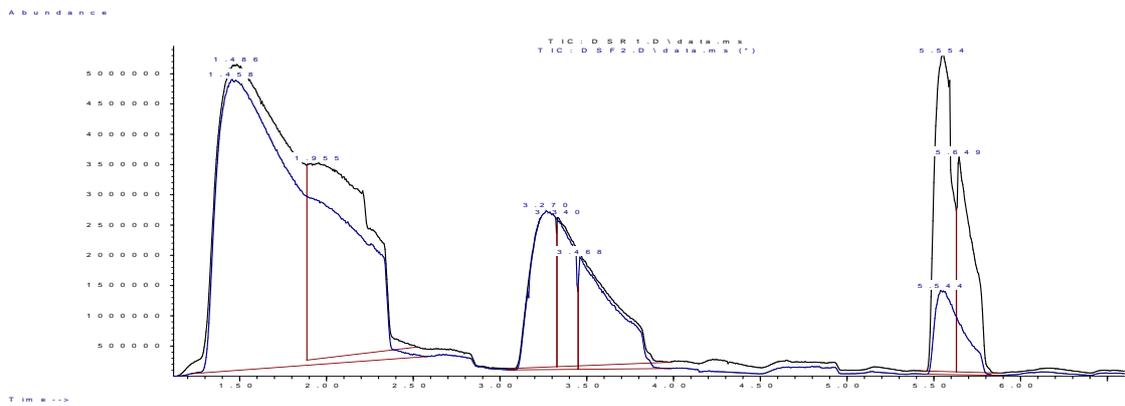


Figura 71: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 1.

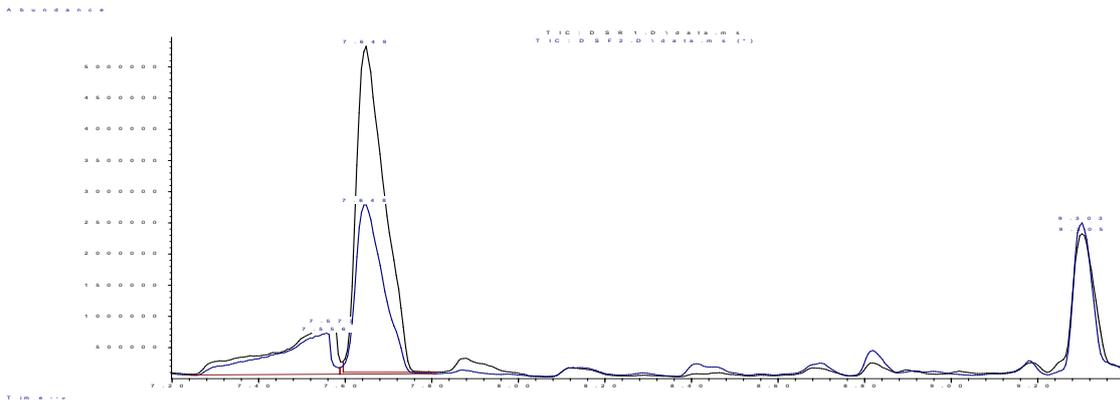


Figura 72: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 2.

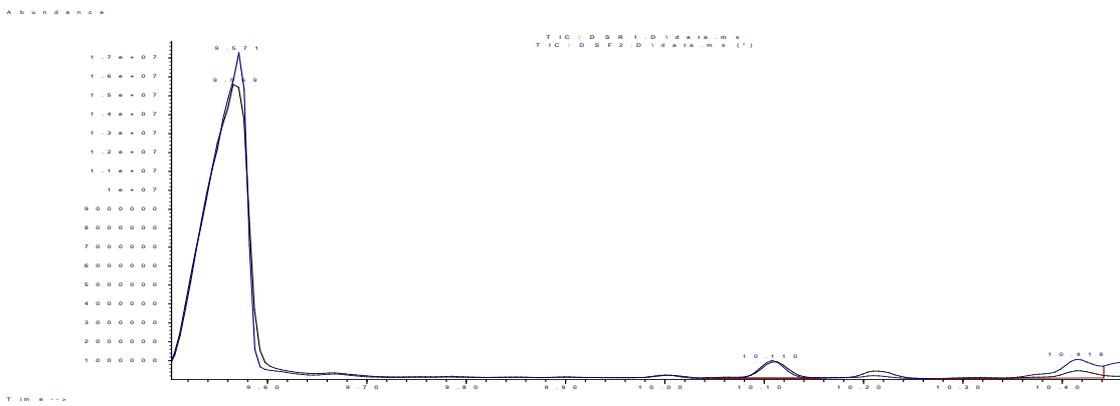


Figura 73: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 3.

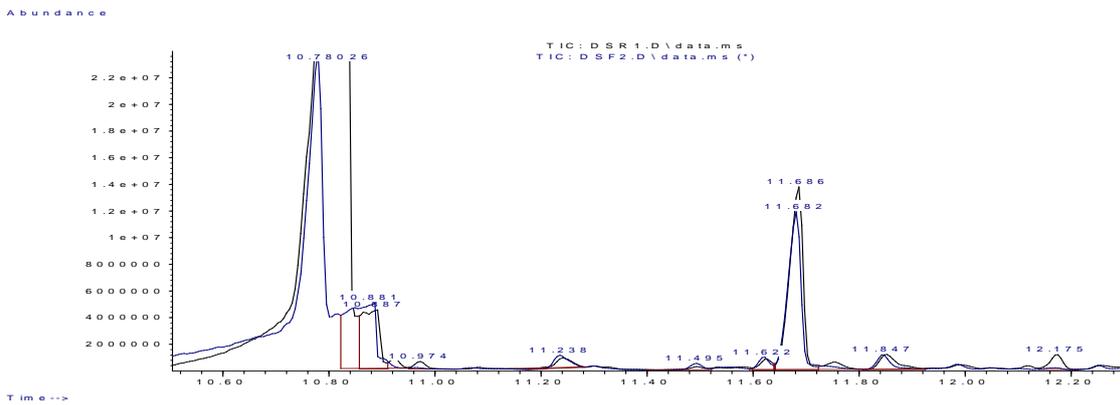


Figura 74: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 4.

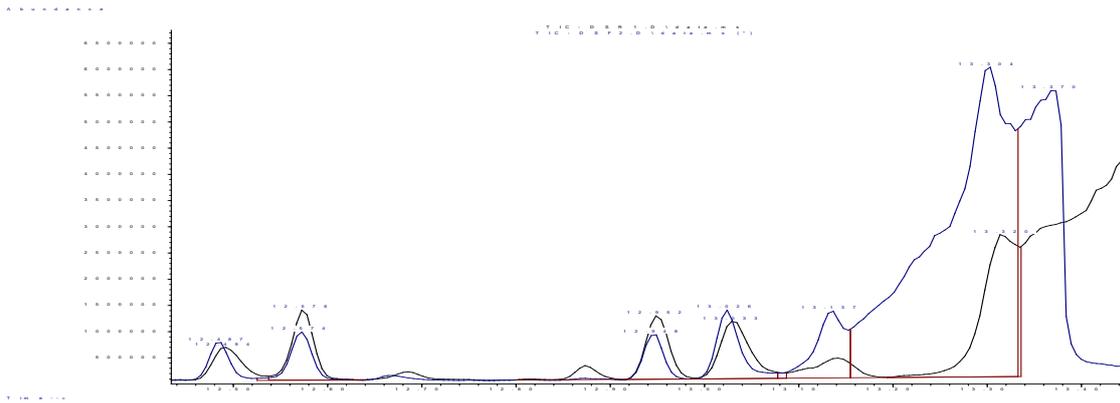


Figura 75: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 5.

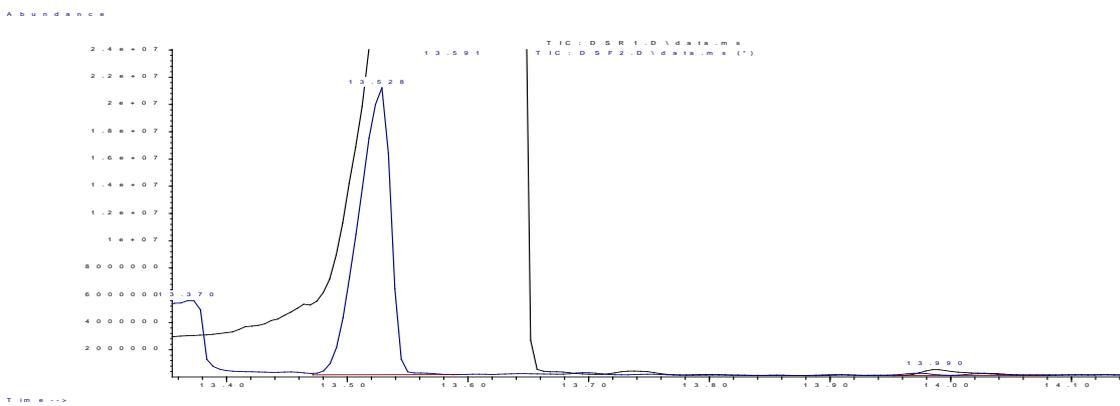


Figura 76: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 6.

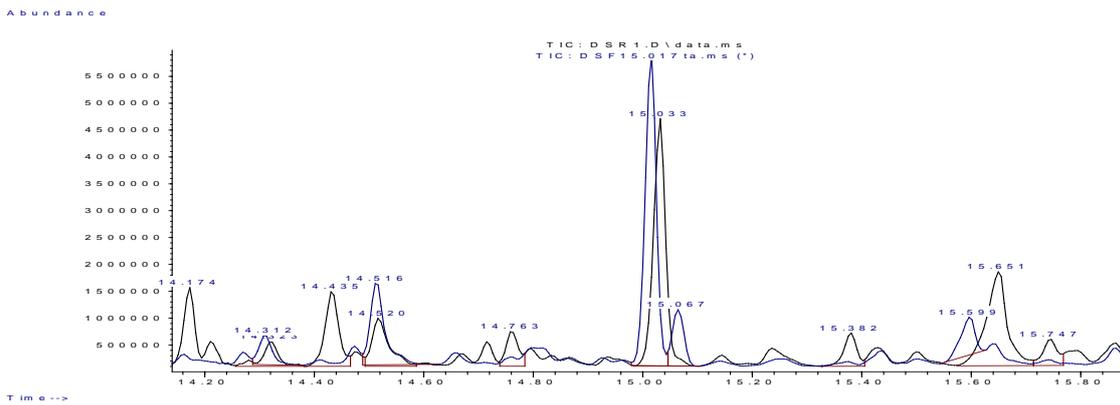


Figura 77: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 7

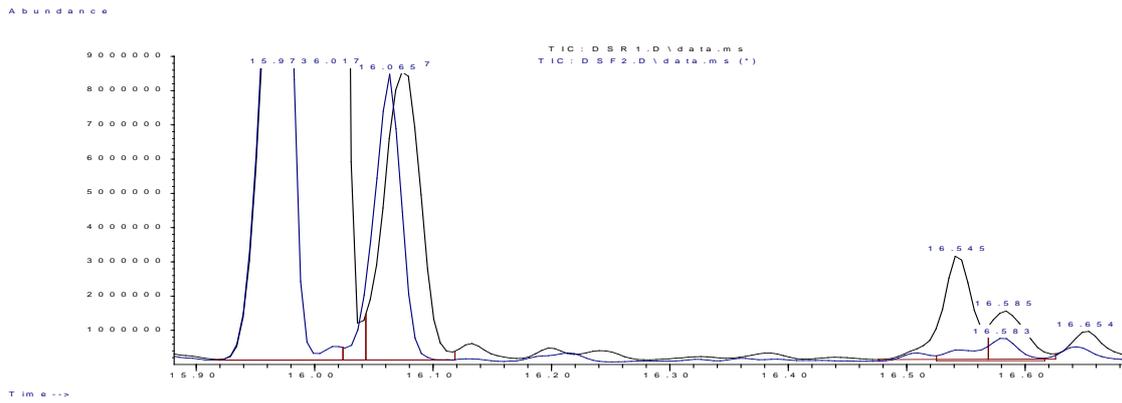


Figura 78: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 8.

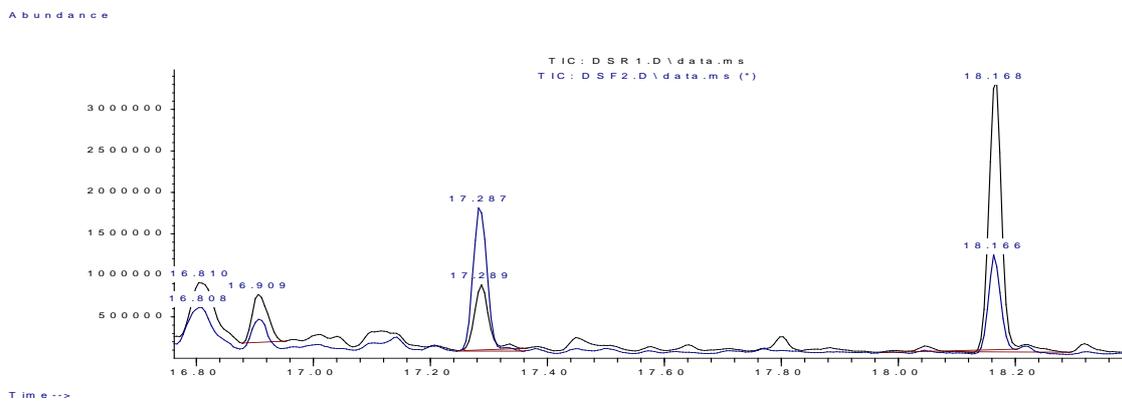


Figura 79: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 9.

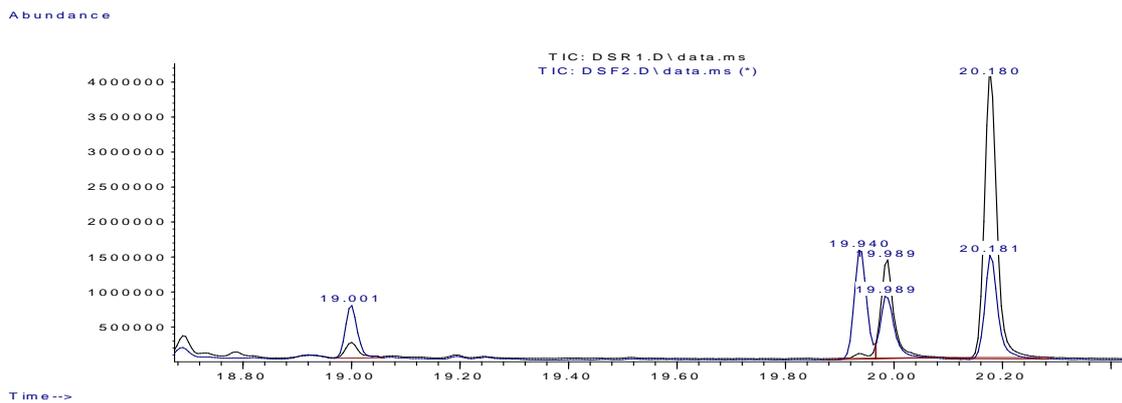


Figura 80: Comparação dos cromatogramas da cerveja Dark Strong 10.

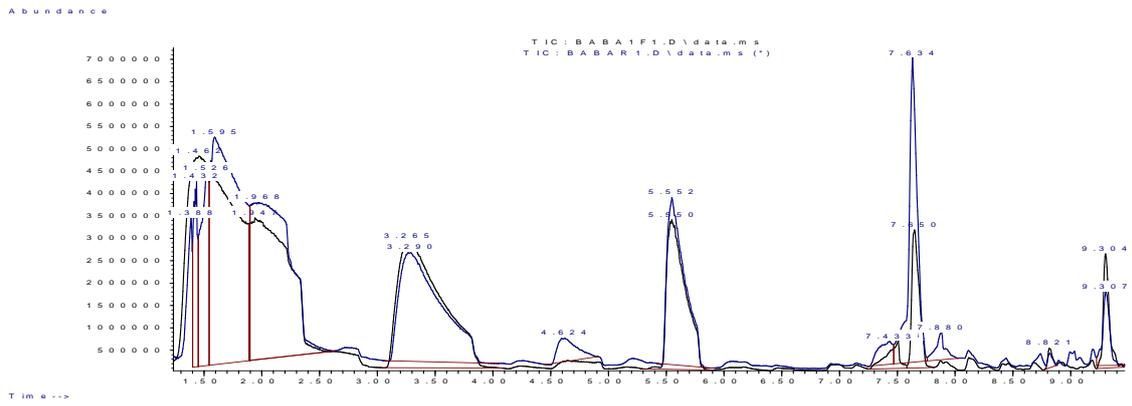


Figura 81: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 1.

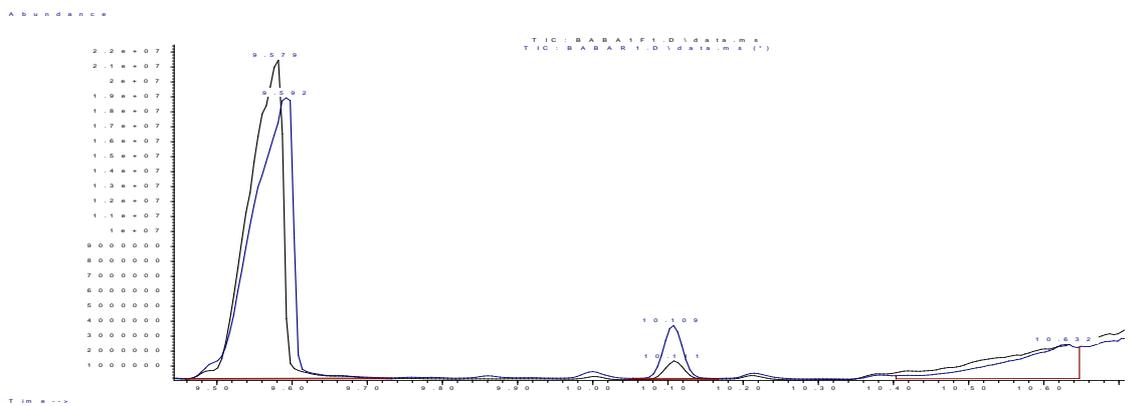


Figura 82: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 2.

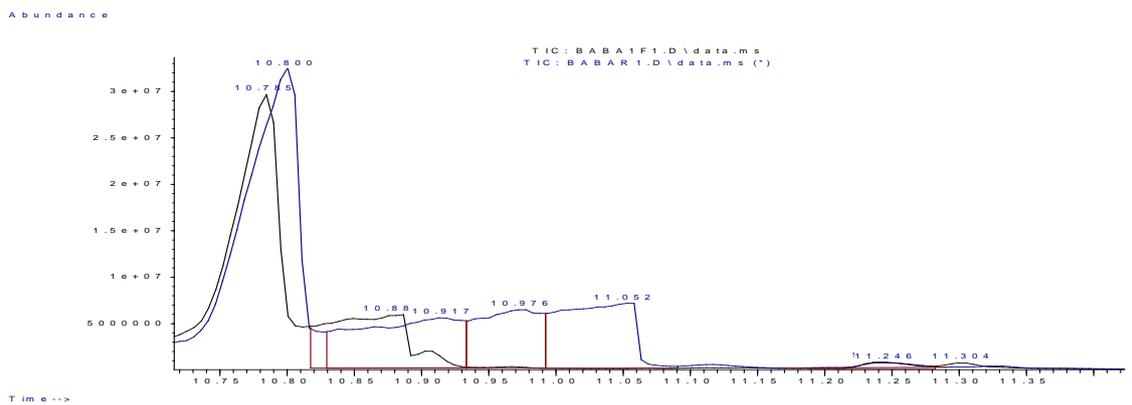


Figura 83: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 3.

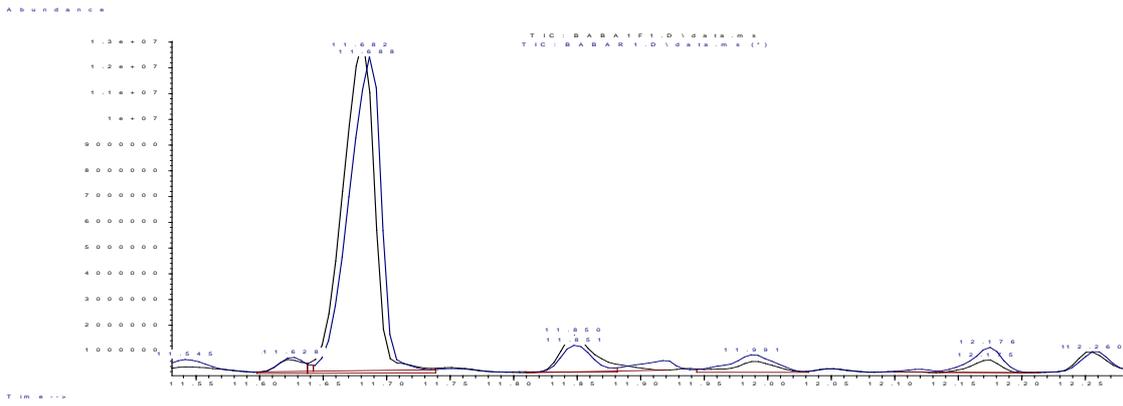


Figura 84: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 4.

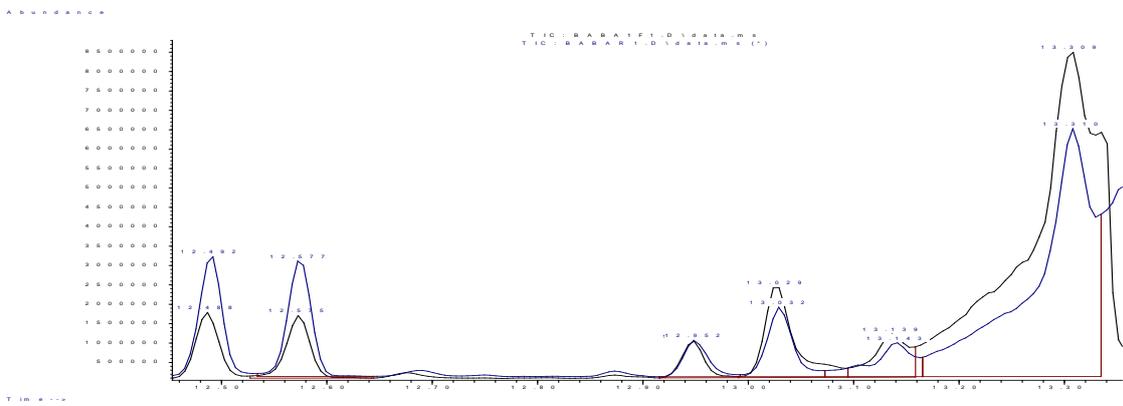


Figura 85: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 5.

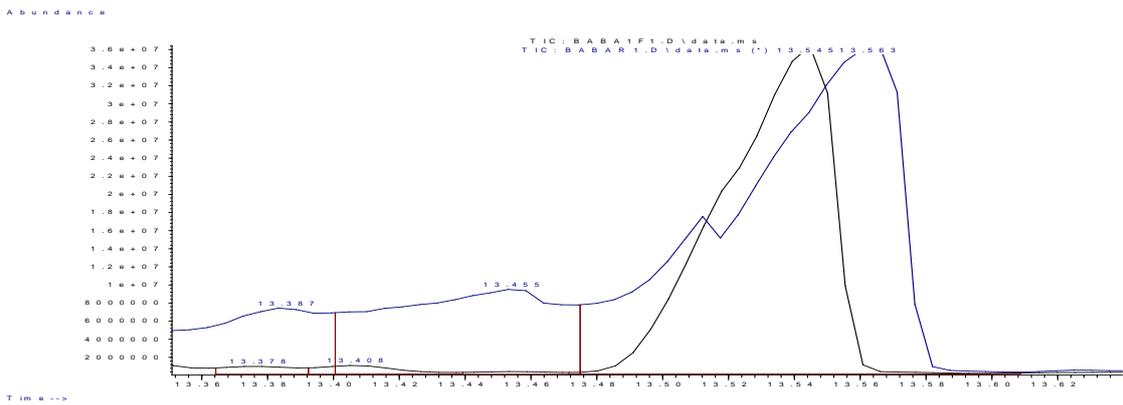


Figura 86: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 6.

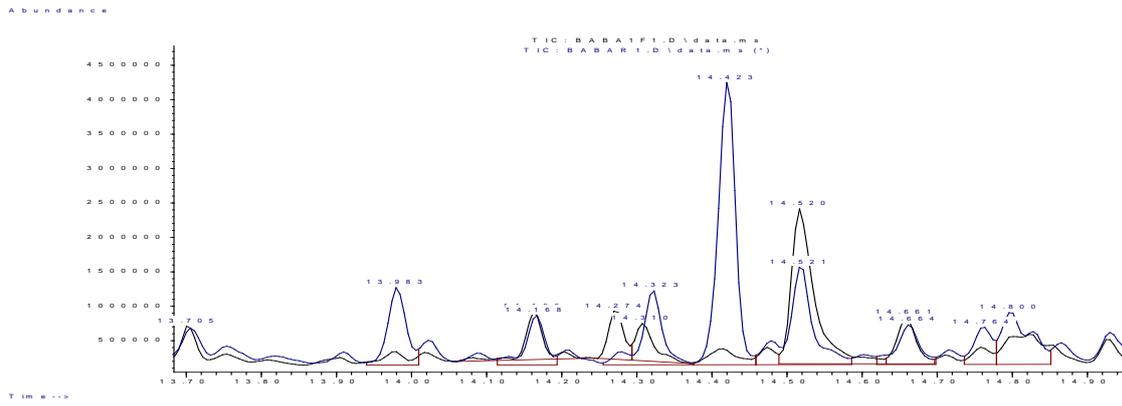


Figura 87: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 7.

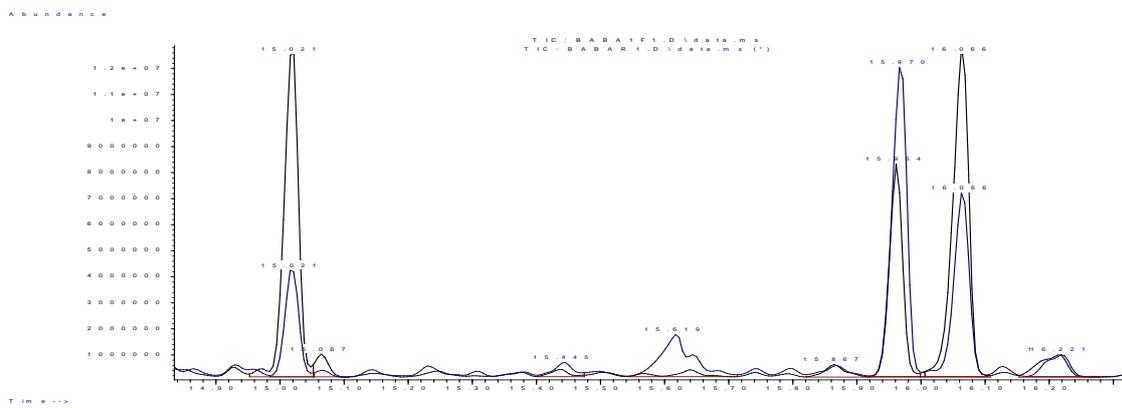


Figura 88: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 8.

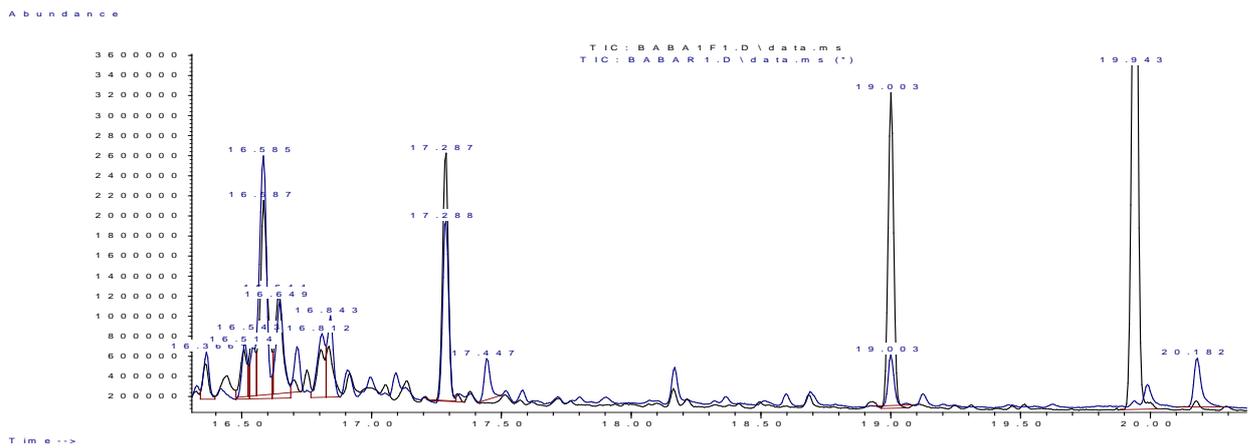


Figura 89: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 1 - 9.

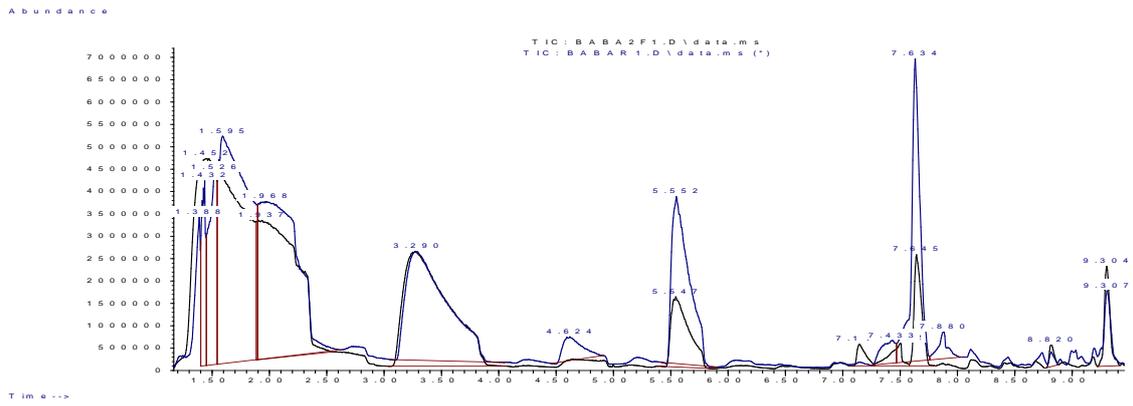


Figura 90: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 1.

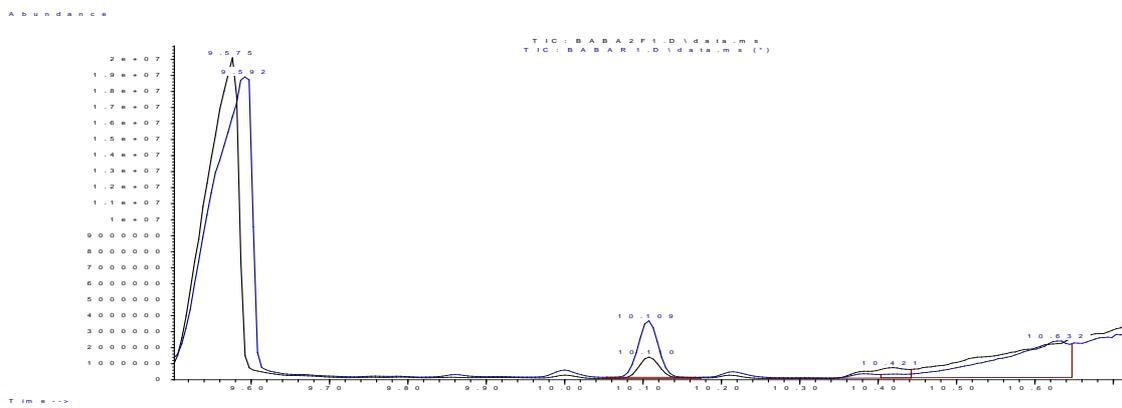


Figura 91: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 2.

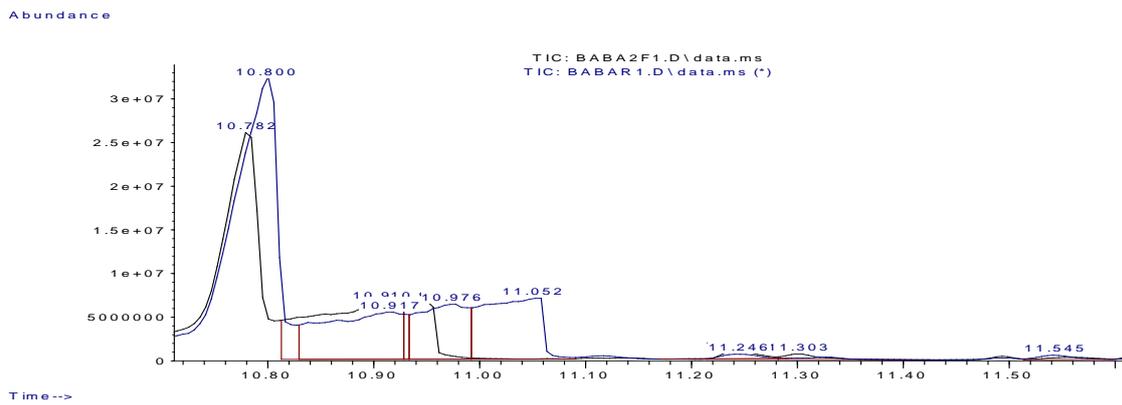


Figura 92: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 3.

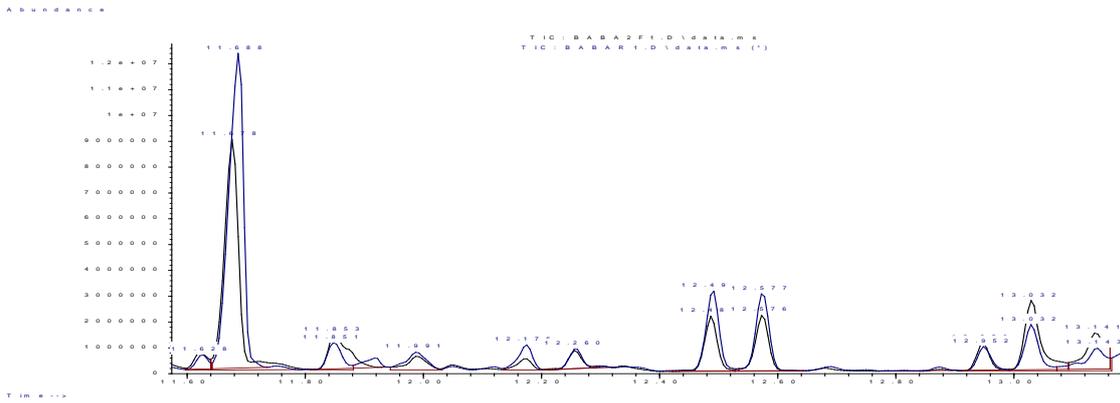


Figura 93: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 4.

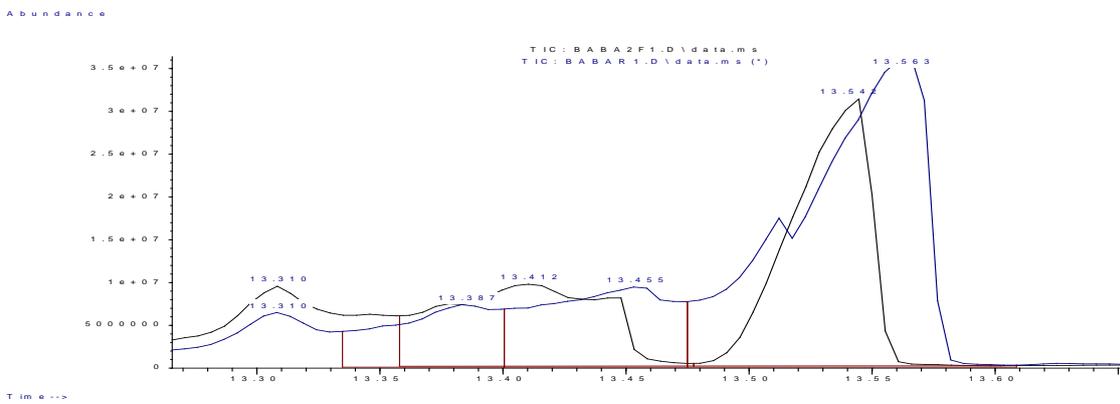


Figura 94: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 5.

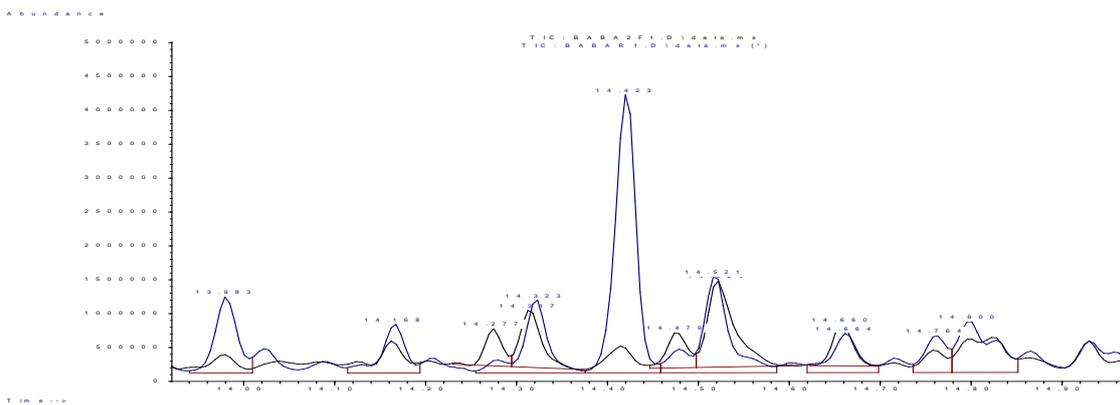


Figura 95: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 6.

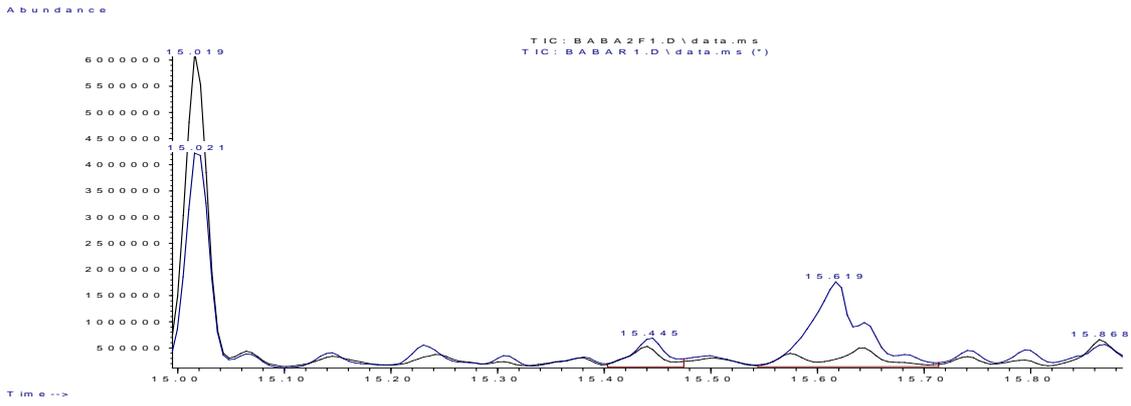


Figura 96: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 7.

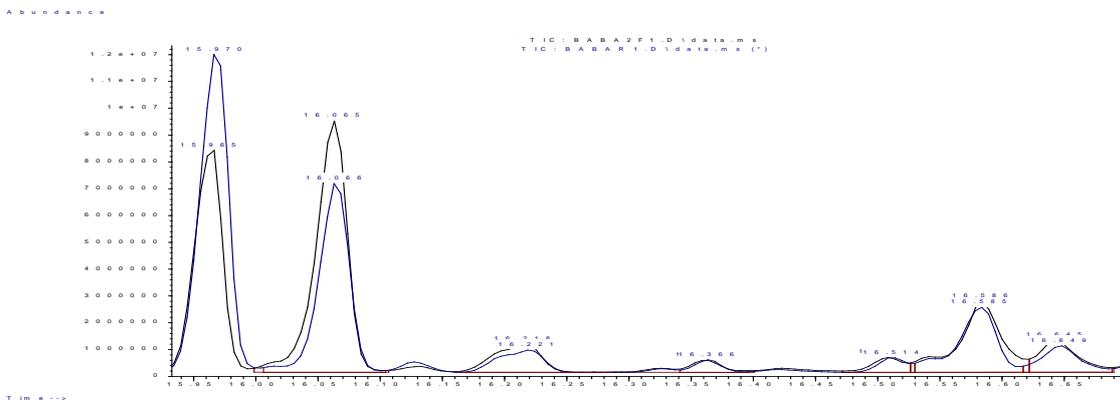


Figura 97: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 8.

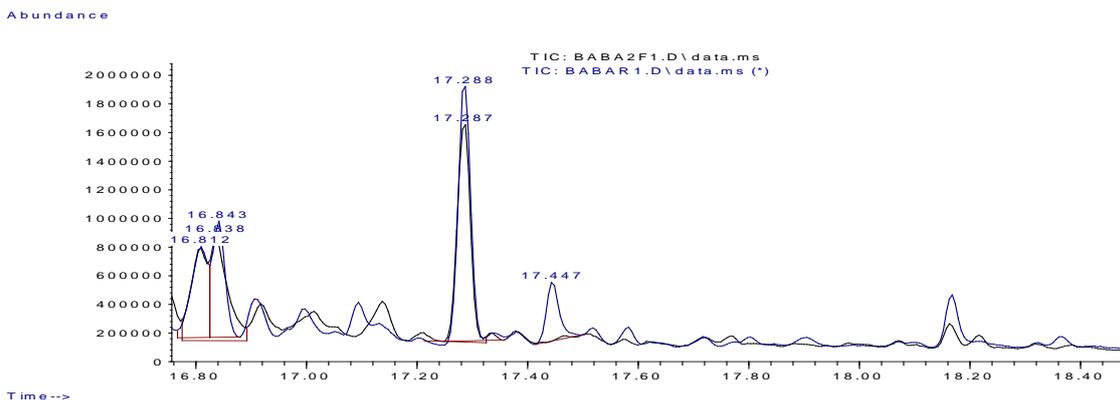


Figura 98: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 9.

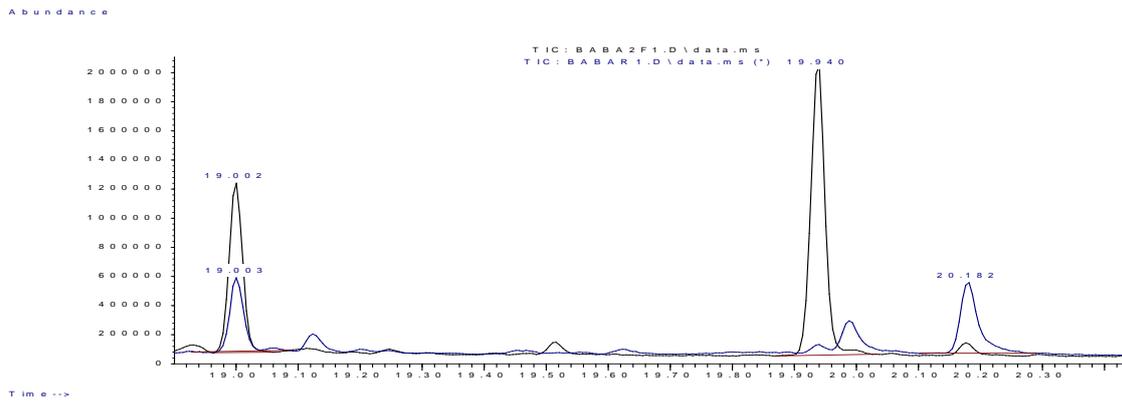


Figura 99: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 2 - 10.

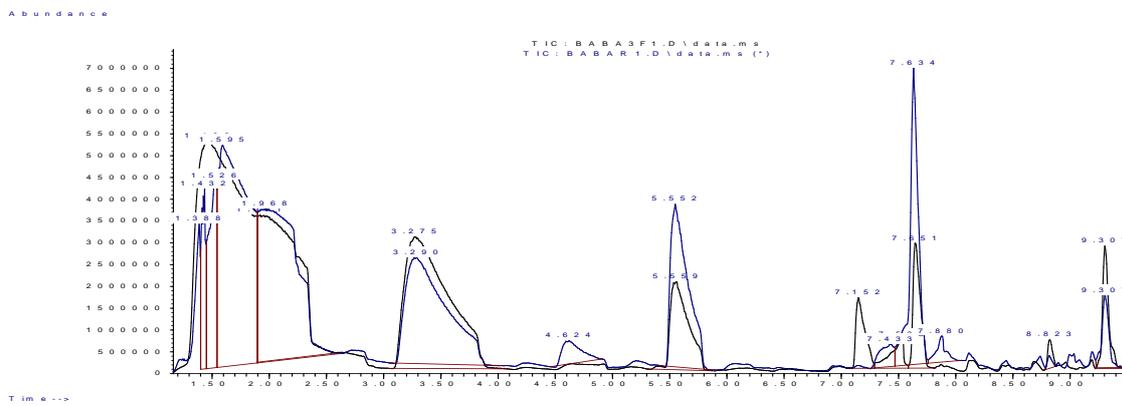


Figura 100: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 1.

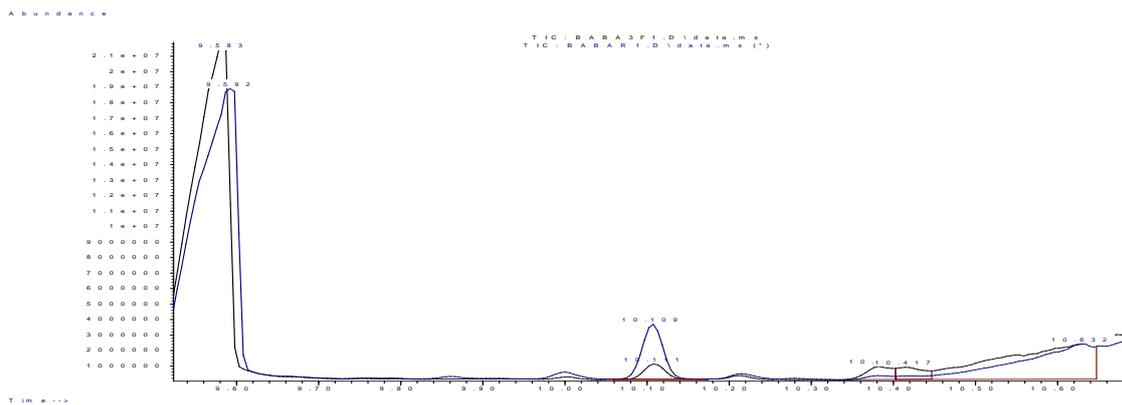


Figura 101: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 2.

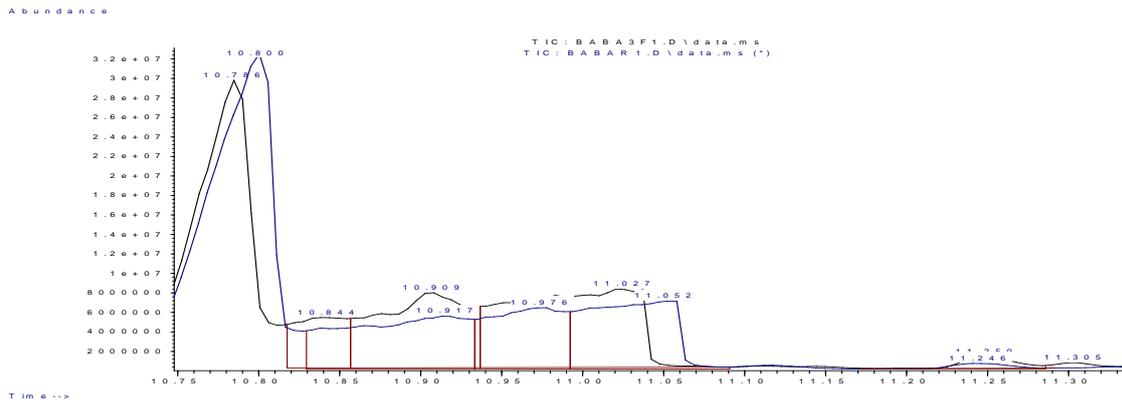


Figura 102: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 3.

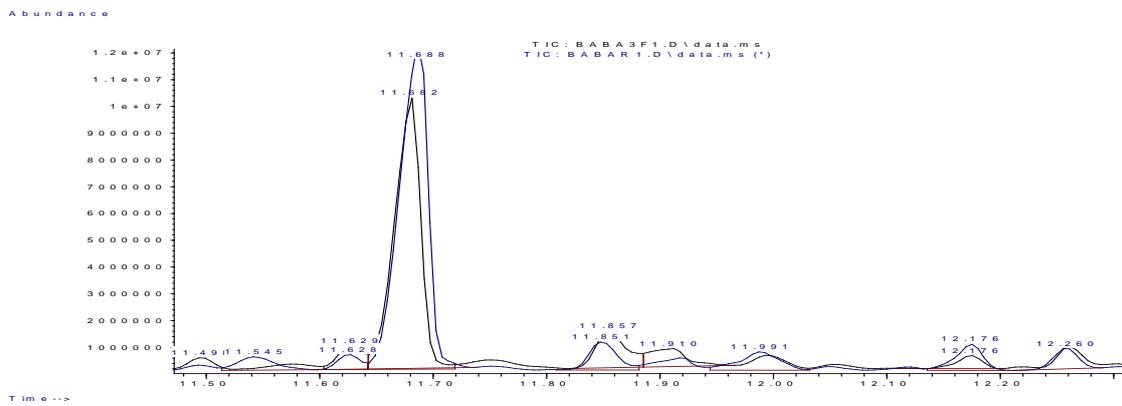


Figura 103: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 4.

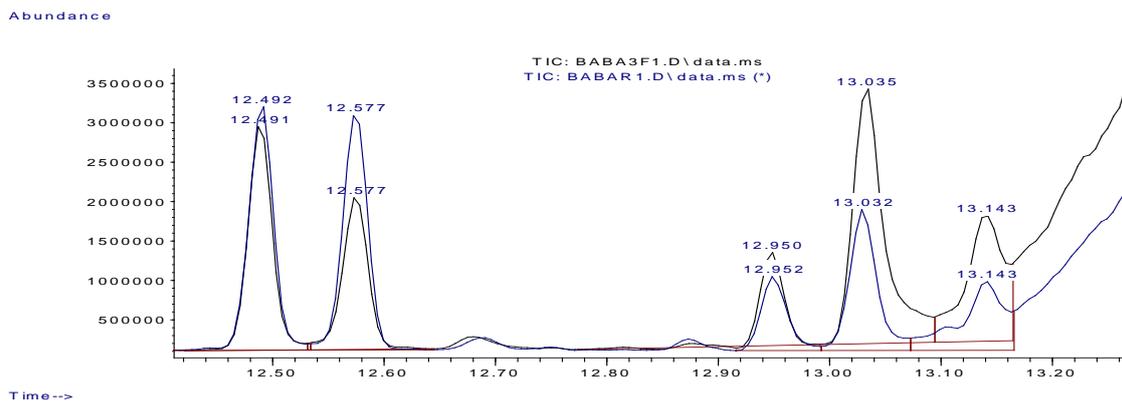


Figura 104: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 5.

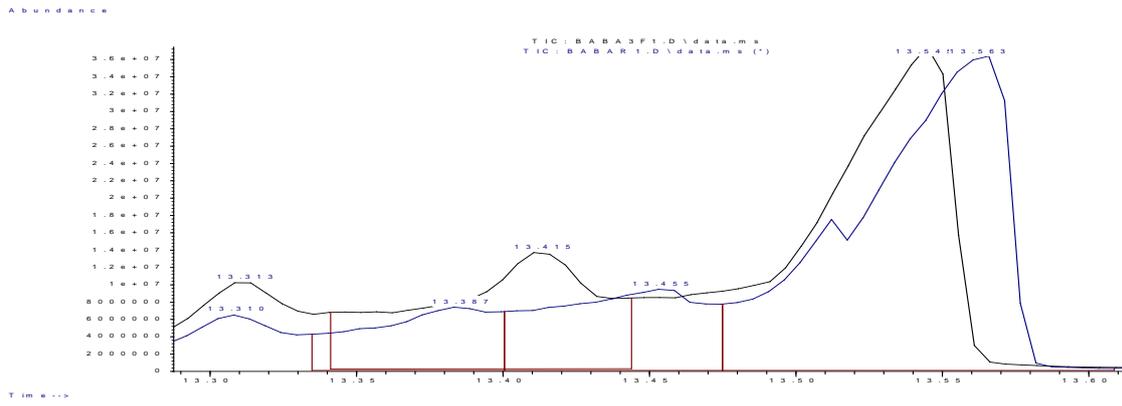


Figura 105: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 6.

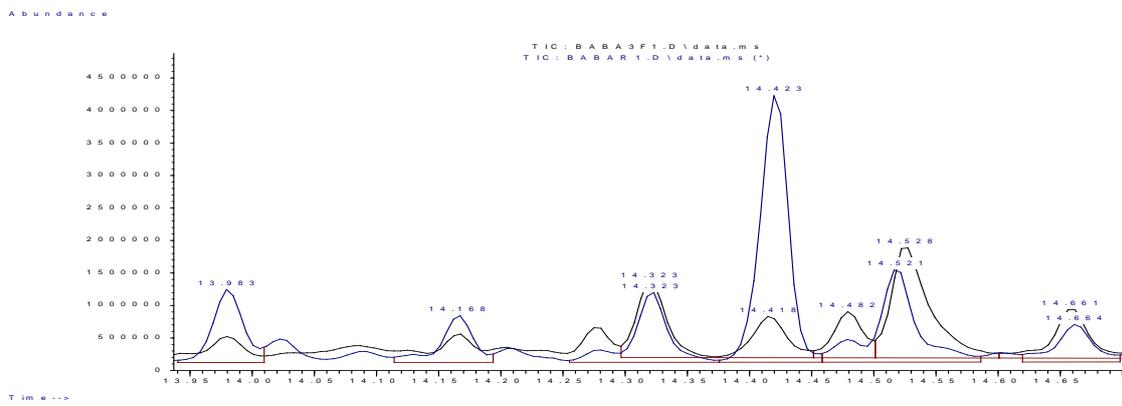


Figura 106: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 7.

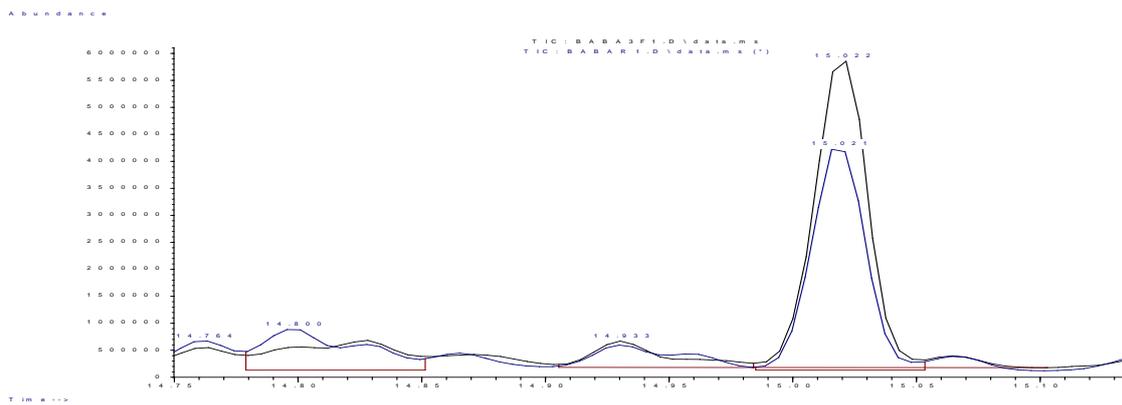


Figura 107: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 8.

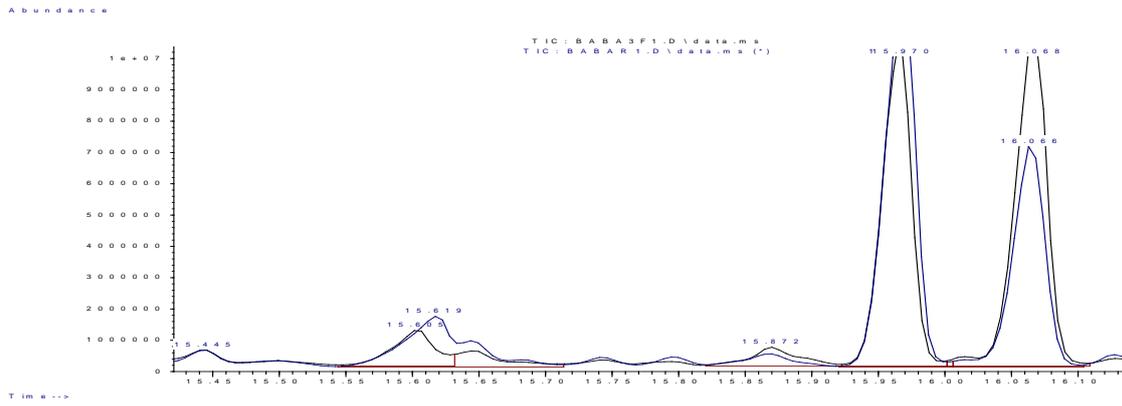


Figura 108: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 9.

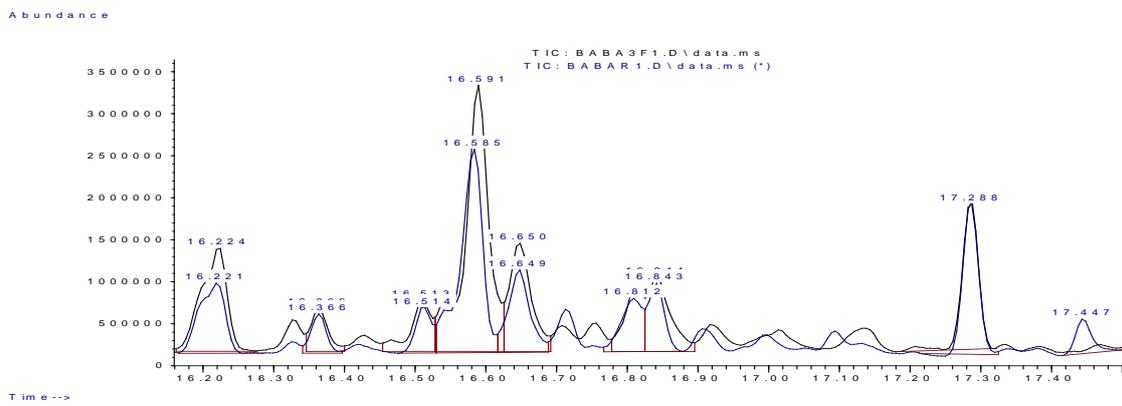


Figura 109: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 10.

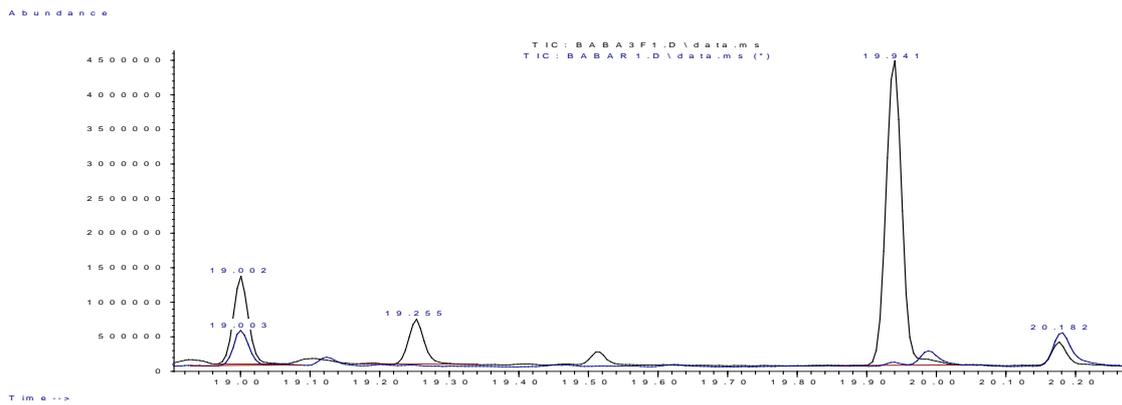


Figura 110: Comparação dos cromatogramas da cerveja BABA ESB 3 - 11.

ANEXO V – Identificação dos Compostos

Tabela 11: Identificação dos compostos Blondie Comercial

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,464	615,96	443,2	7,007
3-metilbutanol	3,275	718,38	706	6,978
acetato de 3-metil-1-butanol	5,559	849,73	855,5	1,191
ácido hexanóico	7,528	967,21	973	0,826
hexanoato de etila	7,65	974,67	976	2,861
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,306	1078,49	1081	0,96
2-feniletanol	9,578	1096,05	1082,4	9,059
octanoato de etila	10,826	1178,71	1175	28,03
R-3,7-dimetil-6-octen-1-ol	11,236	1206,68	1179	0,403
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,619	1233,20	1232	0,256
acetado de 2-feniletila	11,678	1237,31	1223,9	1,384
1-Decanol	11,846	1249,10	1256	0,301
nonanoato de etila	12,173	1272,25	1282	0,254
2-Undecanol	12,252	1277,89	1287	0,122
2-metoxi-4-vinilfenol	12,488	1294,84	1272	0,141
Acetato de 3,7-dimetil-6-octen-1-ila	12,952	1328,65	1331	0,323
2-metilpropanoato de 1-tercbutil-2-metil-3-hidroxi-propila	13,025	1334,03	1347	0,33
Ácido decanóico	13,267	1351,97	1344	1,83
2-metil-propanoato de 3-hidroxi-2,4,4-trimetilpentila	13,305	1354,81	1381	0,945
9-decenoato de etila	13,411	1362,74	1357	1,681
Decanoato de etila	13,551	1373,26	1367	15,329
Cariofileno	13,981	1405,99	1424	0,267
Ácido octanóico 3-metilbutil éster	14,163	1420,03	1433	0,228
α -Cariofileno	14,418	1439,89	1456	0,794
1-Dodecanol	14,513	1447,34	1457	0,99
Undecanoato de etila	14,662	1459,10	1483	0,221
2-dimetil-6-metileno-2-ciclohexanopropanol	14,757	1466,63	1423	0,253
2,5-bis(1,1-dimietil)fenol	15,016	1487,34	1514	1,318
2,6-di terc-butil-4-metilfenol	15,067	1491,44	1503,9	0,248
3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-ol	15,642	1538,38	1545	0,268
Dodecanoato de etila	15,967	1565,46	1566	3,148
Dipropanoato de 2,3,3-trimetil-1,3-pentanodiila	16,064	1573,62	1605	2,674
Óxido de cariofileno	16,197	1584,87	1576	0,169
trans-longipinocarveol	16,579	1617,57	1599	0,445
tau.-Cadinol	16,643	1623,10	1628	0,233
2,3,4,4a,5,6,7,8-octahidro-1,1,4a,7-tetrametil,cis-1H-Benzociclohepte-7-ol	16,834	1639,72	1592	0,231
acetato de (8E)-9-metil-8-tridecen-2-ila	17,286	1679,64	1700	0,454

Tabela 12: Identificação do Compostos Blondie filtrada

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,408	612,80	443,2	25,537%
3-metil-1-butanol (ácido isoamílico)	3,238	716,27	706	7,197%
acetato de 3-metilbutanol	5,525	847,74	855,5	2,145%
Ácido Hexanóico	7,522	966,84	973	1,046%
Hexanoato de etila	7,643	974,24	976	3,125%
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,306	1078,49	1081	1,247%
2-feniletanol	9,589	1096,76	1082,4	11,267%
octanoato de etila	10,792	1176,41	1175	14,220%
ácido octanóico	10,913	1184,61	1154	3,699%
R-3,7-dimetil-6-octen-1-ol	11,243	1207,16	1179	0,715%
2,3-dimetil-1,5-diisopropil ciclohexano	11,305	1211,43	1233	0,244%
Geraniol	11,628	1233,82	1232	0,568%
acetato de 2-feniletala	11,684	1237,73	1223,9	2,529%
2-metoxi-4-vinilfenol	12,489	1294,92	1272	0,253%
Acetato de 3,7-dimetil-6-octen-1-ila	12,955	1328,87	1331	0,186%
2-metilpropanoato de 1-tercbutil-2-metil-3-hidroxi-propila	13,032	1334,54	1347	0,743%
Dihidro-5-petil-2(3H)furanona	13,144	1342,83	1325	0,384%
Ácido decanóico	13,264	1351,75	1344	1,882%
2-metil-propanoato de 3-hidroxi-2,4,4-trimetilpentila	13,312	1355,33	1381	1,541%
decanoato de etila	13,525	1371,30	1367	4,418%
4-butil-3-metoxi-2-ciclohexen-1-ona	14,312	1431,61	1398	0,151%
2,5-bis(1,1-dimetiletil)fenol	15,019	1487,58	1514	0,706%
Dodecanoato de etila	15,964	1565,21	1566	1,832%
Dipropanoato de 2,3,3-trimetil-1,3-pentanodiila	16,065	1573,71	1605	2,771%
óxido de cariofileno	16,193	1584,53	1576	0,189%
3,4-dimetoxi-5-hidroxibenzaldeído	16,476	1608,70	1581	0,292%
Trans-Longipinocarveol	16,593	1618,78	1599	0,451%
.tau.-Cadinol	16,645	1623,28	1628	0,189%
éter octílico	16,754	1632,74	1657	0,089%
2,3,4,4a,5,6,7,8-octahidro-1,1,4a,7-tetrametil,cis-1H-Benzociclohepte-7-ol	16,793	1636,14	1592	0,361%
acetato de (8E)-9-metil-8-tridecen-2-ila	17,288	1679,82	1700	0,411%
tetradecanoato de isopropila	18,497	1790,90	1814	0,120%
Hexadecanoato de metila	19,941	1932,31	1909,1	0,363%

Tabela 13: Identificação dos compostos BABA ESB Comercial

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,595	623,36	443,2	9,17
3-metil-1-butanol	3,29	719,23	706	6,183
acetato de 3-metil-1-butanol	5,552	849,32	855,5	3,989
ácido hexanóico	7,433	961,42	973	0,443
hexanoato de etila	7,634	973,69	976	3,554
acetato de hexila	7,88	988,80	990	0,344
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,307	1078,55	1081	0,708
Feniletanol	9,592	1096,95	1082,4	7,144
octanoato de etila	10,8	1176,95	1175	10,634
Ácido octanoico	10,917	1184,88	1154	2,939
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,246	1207,36	1179	0,121
3,7-dimetil-(E)-2,6-Octadien-1-ol	11,628	1233,82	1232	0,074
acetato de 2-feniletila	11,688	1238,01	1223,9	2,172
1-Decanol	11,851	1249,45	1256	0,184
Nonanoato de etila	12,176	1272,46	1282	0,17
2-Undecanol	12,26	1278,46	1287	0,116
2-metoxi-4-vinilfenol	12,492	1295,13	1272	0,497
Benzenopropanóico acetato de etila	12,952	1328,65	1320	0,157
2,2-dimetil-1-(2-hidroxi-1-metiletil)propil ester ácido propanóico	13,032	1334,54	1347	0,313
Ácido n-decanóico	13,143	1342,75	1325	0,236
trans-4-decanoato de etila	13,387	1360,94	1378	2,277
Dodecanoato de etila	13,563	1374,17	1367	13,046
Cariofileno	13,983	1406,15	1424	0,195
2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	14,168	1420,42	1433,6	0,134
4-butil-3-metoxi-2-ciclohexen-1-ona	14,323	1432,46	1398	0,217
α-Cariofileno	14,423	1440,28	1456	0,673
1-Dodecanol	14,521	1447,97	1457,1	0,34
β-Guaiene	14,664	1459,26	1483	0,126
4-(5,5-dimetil-1-oxaspiro[2.5]oct-4-il)-3-buten-2-ona	14,764	1467,19	1501	0,092
2,5-bis(1,1-dimetiletil)fenol	15,021	1487,74	1514	0,647
2,3,3-trimetil-2-(3-metilbutil)Ciclohexanona	15,445	1522,16	1493	0,117
ácido dodecanoico	15,619	1536,48	1556	0,558
Dodecanoato de etila	15,97	1565,72	1566	1,989
2-metil-, 1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanediil Propanoato de etila	16,066	1573,79	1605	1,23
Globulol	16,221	1586,91	1578	0,217
decahidro-1,5,5,8a-tetrametil-, [1R-(1α,3$\alpha$$\beta$,4$\alpha$,8$\alpha$$\beta$,9S*)]-1,4-Metanoazulen-9-ol	16,366	1599,27	1593	0,074
Cubenol	16,514	1611,96	1651	0,086
.tau.-Cadinol	16,649	1623,62	1628	0,214
α-Cadinol	16,812	1637,80	1641	0,13

5β,7βH,10α-Eudesm-11-en-1α-ol	16,843	1640,51	1651	0,138
1'-(butin-3-one-1-il)-, (1R,2S,5R)-Mentol	17,288	1679,82	1639	0,285
3,7,11-trimetil-2,6,10-Dodecatrien-1-ol	17,447	1694,07	1658	0,067
bis(2-metilpropil) ester-1,2-Benzeno ácido dicarboxílico	19,003	1839,34	1819	0,081
Hexadecanoato de etila	20,182	1956,89	1968	0,103

Tabela 14: Identificação dos compostos BABA ESB 1 filtrada

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,462	615,85	443,2	16,359
3-metil-1-butanol	3,265	717,81	706	9,141
acetato de 3-metil-1-butanol	5,55	849,20	855,5	4,589
ácido hexanóico	7,506	965,87	973	0,558
hexanoato de etila	7,65	974,67	976	1,721
1-Octanol	8,821	1047,55	1054	0,14
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,304	1078,36	1081	1,148
Feniletanol	9,579	1096,11	1082,4	8,296
octanoato de etila	10,785	1175,93	1175	12,979
Ácido octanoico	10,881	1182,44	1154	3,127
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	11,244	1207,23	1179	0,219
1,5-diisopropil-2,3-dimetil-Ciclohexano	11,304	1211,36	1233	0,185
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,627	1233,75	1232	0,088
2-pheniletanoato de etila	11,682	1237,59	1223,9	2,763
1-Decanol	11,85	1249,38	1256	0,333
Nonanoato de etila	12,175	1272,39	1282	0,092
2-Undecanol	12,256	1278,18	1287	0,159
2-metoxi-4-vinilfenol	12,488	1294,84	1272	0,318
Benzenopropanoato de etila	12,95	1328,50	1320	0,171
2,2-dimetil-1-(2-hidroxi-1-metiletil)propil éster ácido propanóico	13,029	1334,32	1347	0,569
5-heptildihidro-2(3H)-Furanona,	13,139	1342,46	1325	0,306
Ácido decanóico	13,309	1355,10	1344	4,981
7-Hidroxi-6-metil ácido oct-3-enóico	13,378	1360,26	1378	0,159
trans-4-decenoato de etila	13,408	1362,51	1378	0,207
decanoato de etila	13,545	1372,81	1367	10,153
Dodecanal	13,705	1384,92	1386	0,1
2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	14,165	1420,19	1433,6	0,148
6,10-dimetil-(E)-5,9-Undecadien-2-ona	14,274	1428,65	1428	0,12
4-butil-3-metoxi-2-Ciclohexen-1-ona	14,31	1431,45	1398	0,117
1-Dodecanol	14,52	1447,89	1457,1	0,6
β-Guaiene	14,661	1459,02	1483	0,147
2,6-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	15,021	1487,74	1514	2,413
2,6-di-terc-butil-4-metilfenol	15,067	1491,44	1503,9	0,151
álcool Cariofilenil	15,867	1557,09	1576,1	0,131
Dodecanoato de etila	15,964	1565,21	1566	1,451
2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanediil Propanoato de etila	16,066	1573,79	1605	2,722
Globulol	16,217	1586,57	1578	0,324
Cubenol	16,511	1611,71	1651	0,094
3-metil pentanoato de butila	16,543	1614,46	1615	0,117

.tau.-Cadinol	16,644	1623,19	1628	0,273
1'-(butin-3-one-1-il)-, (1S,2S,5R)-Mentol	17,287	1679,73	1639	0,484
bis(2-metilpropil) éster-1,2-Benzeno ácido dicarboxílico	19,003	1839,34	1819	0,59

Tabela 15: Identificação dos compostos BABA ESB 2 filtrada

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,452	615,29	443,2	16,873
3-metil-1-butanol	3,274	718,32	706	8,634
acetato de 3-metil-1-butanol	5,547	849,03	855,5	2,126
1-Heptanol	7,147	944,07	929	0,307
ácido hexanóico	7,502	965,63	973	0,457
hexanoato de etila	7,645	974,36	976	1,392
1-Octanol	8,820	1047,49	1054	0,176
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,304	1078,36	1081	0,951
Feniletanol	9,575	1095,85	1082,4	7,544
octanoato de etila	10,782	1175,73	1175	11,645
Ácido octanóico	10,911	1184,47	1154	4,687
1,5-diisopropil-2,3-dimetilCiclohexano	11,303	1211,29	1233	0,187
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,626	1233,68	1232	0,131
acetato de 2-feniletila	11,678	1237,31	1223,9	1,969
1-Decanol	11,853	1249,59	1256	0,387
2-Undecanol	12,259	1278,39	1287	0,147
2-metoxi-4-vinilfenol	12,489	1294,92	1272	0,400
Benzenopropanóico acetato de etila	12,950	1328,50	1320	0,194
2,2-dimetil-1-(2-hidroxi-1-metiletil)propil éster ácido propanóico	13,032	1334,54	1347	0,637
5-heptildihidro-2(3H)-Furanona	13,141	1342,61	1325	0,402
Ácido n-decanóico	13,310	1355,18	1344	5,580
decanoato de etila	13,542	1372,59	1367	8,523
6,10-dimetil-, (E)-5,9-Undecadien-2-ona	14,277	1428,88	1428	0,089
4-butil-3-metoxi-2-ciclohexen-1-ona	14,317	1432,00	1398	0,175
3-phenil-(E)-2-Propenoato de etila	14,479	1444,67	1437	0,102
1-Dodecanol	14,524	1448,21	1457,1	0,336
β-Guaiene	14,660	1458,94	1483	0,119
2,5-bis(1,1-dimetiletil)fenol	15,019	1487,58	1514	1,075
álcool cariofilenilo	15,868	1557,17	1576,1	0,139
Dodecanoato de etila	15,965	1565,30	1566	1,638
2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanediil propanoato de etila	16,065	1573,71	1605	2,075
Globulol	16,218	1586,66	1578	0,343
Humulane-1,6-dien-3-ol	16,363	1599,01	1606	0,129
Cubenol	16,511	1611,71	1651	0,117
.tau.-Cadinol	16,645	1623,28	1628	0,330
5β,7βH,10α-Eudesm-11-en-1α-ol	16,838	1640,07	1651	0,359
1'-(butin-3-one-1-il)-, (1R,2S,5R)-Mentol	17,287	1679,73	1639	0,318
bis(2-metilpropil) éster-1,2-Benzeno ácido dicarboxílico	19,002	1839,24	1819	0,222

Tabela 16: Identificação dos compostos BABA ESB 3 filtrada

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,466	616,08	443,2	14,774
3-metil-1-butanol	3,275	718,38	706	8,145
acetato de 3-metil-1-butanol	5,559	849,73	855,5	2,263
1-Heptanol	7,152	944,37	929	0,898
ácido hexanóico	7,533	967,52	973	0,532
hexanoato de etila	7,651	974,73	976	1,299
1-Octanol	8,823	1047,68	1054	0,191
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,307	1078,55	1081	1,079
Feniletanol	9,583	1096,37	1082,4	6,905
1-Nonanol	10,385	1149,09	1149	0,173
octanoato de etila	10,844	1179,93	1175	1,163
Ácido octanóico	10,909	1184,34	1154	2,991
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,250	1207,64	1179	0,274
1,5-diisopropil-2,3-dimetil-Ciclohexano	11,305	1211,43	1233	0,162
Benzenopropanoato de etila	11,498	1224,78	1210,8	0,08
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,629	1233,89	1232	0,133
2-fenolato de etila	11,682	1237,59	1223,9	1,651
1-Decanol	11,857	1249,87	1256	0,254
Ácido nonanóico	11,910	1253,60	1268	0,162
Nonanoato de etila	12,176	1272,47	1282	0,076
2-Undecanol	12,263	1278,68	1287	0,135
2-metoxi-4-vinilfenol	12,491	1295,06	1272	0,443
Benzenopropanoato de etila	12,950	1328,50	1320	0,18
2,2-dimetil-1-(2-hidroxi-1-metiletil)propil éster ácido propanóico	13,035	1334,77	1347	0,647
5-heptildihidro-2(3H)-Furanona	13,143	1342,75	1325	0,378
Ácido decanóico	13,313	1355,40	1344	4,102
Decanoato de etila	13,545	1372,81	1367	12,528
4-(2,2-Dimetil-6-metileneciclohexil)butanal	14,323	1432,47	1468	0,204
α-Cariofileno	14,418	1439,89	1456	0,124
3-fenil-(E)-2-Propenoato de etila	14,482	1444,91	1437	0,118
1-Dodecanol	14,528	1448,52	1457,1	0,381
β-Guaiene	14,661	1459,02	1483	0,158
1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-4a,8-dimetil-2-(1-metiletenil)-, [2R-(2α,4α,8β)]-Naftaleno	14,933	1480,67	1523	0,103
2,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	15,022	1487,82	1514	0,898
2,3,3-trimetil-2-(3-metilbutil)-Ciclohexanona	15,445	1522,16	1493	0,108
Ácido dodecanóico	15,605	1535,33	1556	0,251
álcool Cariofilenilo	15,872	1557,51	1576,1	0,151
Dodecanoato de etila	15,967	1565,46	1566	1,609
2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanediil Propanoato de etila	16,068	1573,96	1605	1,802
Globulol	16,224	1587,17	1578	0,314

Humulane-1,6-dien-3-ol	16,366	1599,27	1606	0,088
Cubenol	16,513	1611,88	1651	0,124
.tau.-Cadinol	16,650	1623,71	1628	0,286
[1R-(1α,4$\alpha\beta$,8$\alpha\alpha$)]-1-Naftalenol, decahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletilideno)	16,844	1640,60	1681	0,343
1'-(butin-3-one-1-il)-, (1S,2S,5R)-Mentol	17,288	1679,82	1639	0,288
bis(2-metilpropil) éster-1,2-Benzeno ácido dicarboxílico	19,002	1839,24	1819	0,191
Salicilato de homomentila	19,255	1863,90	2037	0,101

Tabela 17: Identificação dos compostos Dark Strong Comercial

Composto	T.R.	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,486	617,21	443,2	11,155
3-metil-1-butanol	3,273	718,26	706	2,016
acetato de 3-metil-1-butanol	5,554	849,43	855,5	2,841
ácido hexanóico	7,573	969,96	973	0,56
hexanoato de etila	7,649	974,61	1004	1,886
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,305	1078,42	1081	0,658
Feniletanol	9,569	1095,46	1082,4	3,8
octanoato de etila	10,826	1178,71	1175	16,031
Ácido octanoico	10,887	1182,84	1154	0,879
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	11,244	1207,23	1179	0,108
2-feniletanoato de etila	11,686	1237,87	1223,9	1,94
1-Decanol	11,854	1249,66	1256	0,224
Nonanoato de etila	12,175	1272,39	1282	0,15
2-metoxi-4-vinilfenol	12,494	1295,28	1272	0,109
Benzenopropanoato de etila	12,952	1328,65	1320	0,167
Ácido decanóico	13,320	1355,93	1344	0,553
Decanoato de etila	13,591	1376,28	1367	28,433
Cariofileno	13,990	1406,69	1424	0,101
3-metilbutil octanoato de etila	14,174	1420,89	1433	0,183
4-(2,2-Dimetil-6-methilenciclohexil)butanal	14,323	1432,47	1468	0,078
α-Cariofileno	14,435	1441,22	1456	0,197
1-Dodecanol	14,520	1447,89	1457,1	0,157
Undecanoato de etila	14,763	1467,11	1483	0,081
2,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	15,033	1488,70	1514	0,578
Ácido dodecanóico	15,651	1539,13	1556	0,377
(Z)-5-Pentadecen-7-ina	15,747	1547,09	1538	0,072
Dodecanoato de etila	16,017	1569,67	1566	10,715
2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanediil Propanoato de etila	16,077	1574,72	1605	1,467
3-metil pentanoato de butila	16,545	1614,64	1615	0,445
.tau.-Cadinol	16,654	1624,06	1628	0,14
α-Cadinol	16,810	1637,63	1641	0,187
1-Tetradecanol	16,909	1646,29	1675	0,086
1'-(butin-3-one-1-il)-, (1S,2S,5R)-Mentol	17,289	1679,91	1639	0,107
Tetradecanoato de etila	18,168	1760,04	1778	0,413
9-hexadecenoato de etila	19,989	1937,18	1955	0,196
Hexadecanoato de etila	20,180	1956,68	1968	0,524

Tabela 18: Identificação dos compostos Dark Strong Filtrada

Composto	Tr	Kovats C.	Kovats T.	% Área
Etanol	1,458	615,63	443,2	29,317
3-metil-1-butanol	3,27	718,09	706	6,251
1-Pentanol	3,468	729,34	744,1	4,033
acetato de 3-metil-1-butanol	5,544	848,85	855,5	2,338
ácido hexanóico	7,556	968,92	973	0,901
hexanoato de etila	7,648	974,55	1004	1,839
3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	9,303	1078,29	1081	1,16
Feniletanol	9,571	1095,59	1082,4	7,232
Benzenoato de etila	10,418	1151,29	1141	0,392
octanoato de etila	10,78	1175,60	1175	12,98
Ácido octanóico	10,881	1182,44	1154	3,03
2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	11,238	1206,81	1179	0,288
Benzeno acetato de etila	11,495	1224,57	1210,8	0,119
E-3,7-dimetil-2,6-octen-1-ol (geraniol)	11,622	1233,40	1232	0,204
2-feniletanoato de etila	11,682	1237,59	1223,9	3,205
1-Decanol	11,847	1249,17	1256	0,298
2-metoxi-4-vinilfenol	12,487	1294,77	1272	0,172
Benzenopropanoato de etila	12,948	1328,36	1320	0,194
2,2-dimetil-1-(2-hidroxi-1-metiletil)propil propanoato de etila	13,026	1334,10	1347	0,349
dihidro-5-pentil-2(3H)-Furanona	13,137	1342,31	1325	0,418
Ácido decanóico	13,304	1354,73	1344	4,761
Decanoato de etila	13,528	1371,53	1367	5,943
4-(2,2-Dimetil-6-methilenciclohexil)butanal	14,312	1431,61	1468	0,147
1-Dodecanol	14,516	1447,58	1457,1	0,452
2,5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	15,017	1487,42	1514	1,268
2,6-di-tercbutil-4-metilfenol	15,067	1491,44	1503,9	0,242
Ácido dodecanóico	15,599	1534,83	1556	0,19
Dodecanoato de etila	15,973	1565,97	1566	4,762
2-metil-1-(1,1-dimetiletil)-2-metil-1,3-propanediil Propanoato de etila	16,065	1573,71	1605	2,052
3-metil pentanoato de butila	16,583	1617,92	1615	0,271
α -Cadinol	16,808	1637,45	1641	0,248
1'-(butin-3-one-1-il)-, (1S,2S,5R)-Mentol	17,287	1679,73	1639	0,447
Tetradecanoato de etila	18,166	1759,85	1778	0,221
bis(2-methylpropyl) 1,2-Benzenodicarboxilato de etila	19,001	1839,14	1819	0,178
9-hexadecenoato de etila	19,989	1937,18	1955	0,251
Hexadecanoato de etila	20,181	1956,79	1968	0,378