

# Utilização de mostos concentrados na produção de cervejas pelo processo contínuo: novas tendências para o aumento da produtividade

*Use of concentrated worts for high gravity brewing by continuous process: new tendencies for the productivity increase*

Giuliano DRAGONE<sup>1\*</sup>, Solange Inês MUSSATTO<sup>1</sup>, João Batista de Almeida e SILVA<sup>1</sup>

## Resumo

O presente trabalho avaliou a produtividade volumétrica em etanol durante a fermentação de mostos com elevadas concentrações de extrato original, para a produção de cerveja pelo processo contínuo, utilizando as leveduras imobilizadas em bagaço de malte. Os mostos com diferentes concentrações de extrato original (14,3 °P, 15,2 °P e 19,6 °P) foram preparados a partir de um mosto de 22 °P elaborado com malte e adjunto de alta maltose em uma relação adjunto: malte de 1:2,8. As fermentações foram conduzidas em um reator de coluna de bolhas, a 15 °C, empregando uma taxa de diluição de 0,04 h<sup>-1</sup> e um fluxo constante de gases de 250 mL/min (200 mL/min de CO<sub>2</sub> e 50 mL/min de ar). De acordo com os resultados, a produtividade volumétrica em etanol aumentou quando a concentração de extrato original do mosto foi aumentada, sendo o valor máximo (2,09 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) obtido para o mosto de 19,6 °P. Esse valor representa um aumento de 345% quando comparado com a produtividade (0,47 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) da fermentação descontínua de um mosto de 20 °P. Conclui-se, então, que o processo contínuo de fermentação de mostos com elevadas concentrações de extrato para a produção de cerveja permite obter expressivos ganhos na produtividade em etanol quando comparado ao processo descontínuo.

**Palavras-chave:** cerveja; processo contínuo; leveduras imobilizadas; bagaço de malte; mostos concentrados; produtividade.

## Abstract

The present work evaluated the ethanol volumetric productivity during fermentation of worts with elevated original extract, for high gravity brewing by continuous process using yeasts immobilized on brewer's spent grain. Worts with different original extract (14.3 °P, 15.2 °P and 19.6 °P) were prepared from a wort of 22 °P elaborated with malt and high maltose adjunct in an adjunct:malt ratio of 1:2.8. The fermentations were performed in a bubble column reactor, at 15 °C, using a dilution rate of 0.04 h<sup>-1</sup> and a constant gas flow of 250 mL/min (200 mL/min CO<sub>2</sub> and 50 mL/min air). According to the results, the ethanol volumetric productivity increased when the original extract concentration of the wort was increased, the maximum value (2.09 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) was attained for the wort with 19.6 °P. This value represents an increase of 345% when compared with the productivity (0.47 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) of the discontinuous fermentation of worts with 20 °P. It was thus concluded that beer production by continuous fermentation of worts with elevated original extract can obtain expressive gains in the ethanol volumetric productivity when compared with the discontinuous process.

**Keywords:** beer; continuous process; immobilized yeasts; brewer's spent grain; concentrated worts; productivity.

## 1 Introdução

Devido à sua longa história, a produção de cervejas é considerada como um exemplo típico de biotecnologia tradicional. Apesar de existirem variações na forma de elaboração dependendo do tipo de cerveja a ser produzida, o processo completo consiste basicamente em quatro etapas: 1) malteação (germinação da cevada); 2) produção do mosto cervejeiro (extração e hidrólise dos componentes da cevada malteada seguido de uma separação dos componentes insolúveis e posterior fervura com a adição de lúpulo); 3) fermentação (dividida em fermentação primária e maturação); e 4) processamento final (filtração, estabilização, engarrafamento, etc.)<sup>5</sup>. A etapa mais lenta do processo é a fermentação, na qual as células livres em suspensão fermentam o mosto em reatores operados de forma descontínua, sem agitação. A fermentação primária requer um tempo de aproximadamente sete dias para ser completada e a maturação pode levar várias semanas. Atualmente, com o emprego de elevadas temperaturas de fermentação e cepas selecionadas de leveduras, é possível produzir cervejas entre 12 e 15 dias<sup>14</sup>.

Como resultado da crescente competitividade do mercado, tanto para a redução de custos como para a introdução de novos produtos, os cervejeiros estão constantemente buscando inovações tecnológicas para seus processos. Uma das inovações que está sendo cada vez mais utilizada pelas indústrias cervejeiras é a elaboração de cervejas de altas densidades<sup>9</sup>. Neste processo, são fermentados mostos com concentrações de extrato maiores do que as normalmente utilizadas (11 a 12 °P), sendo necessária, portanto uma diluição com água em uma etapa posterior. Segundo RUSSELL e STEWART<sup>8</sup>, com este procedimento é possível aumentar a capacidade de produção através de um eficiente uso das instalações, reduzindo os custos de energia, mão de obra, limpeza e efluentes.

Outra tecnologia que também vem despertando interesse de diversos grupos de investigação em todo o mundo é a utilização de processos contínuos que utilizam as leveduras imobilizadas em diferentes tipos de suporte. A fermentação principal de cerveja por um sistema contínuo proporciona uma série de vantagens diante da tradicional fermentação por processo descontínuo, as quais incluem: redução no tamanho dos equipamentos, obtenção de um produto com características uniformes e, principalmente, uma significativa diminuição do tempo necessário para a elaboração do produto<sup>11</sup>. A tecnologia de leveduras imobilizadas permite que a produção de cervejas

<sup>1</sup> Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo – USP, Estrada Municipal do Campinho, s/n, CEP 12602-810, Lorena - SP, Brasil, E-mail: gdragone@debiq.eel.usp.br

\*A quem a correspondência deve ser enviada

possa ser completada em apenas três dias, como consequência das altas velocidades de fermentação devido às elevadas concentrações de leveduras dentro do biorreator<sup>10</sup>. Por outro lado, alguns fatores ainda limitam a utilização desta tecnologia em escala industrial, como por exemplo: problemas relacionados com o sabor da cerveja, contaminações durante a fermentação e o custo do suporte de imobilização. O custo do suporte, particularmente, representa uma parte significativa do custo total envolvido para a implantação, em escala industrial, do processo contínuo com leveduras imobilizadas<sup>12</sup>. Desta forma, uma possível alternativa que poderia ser considerada seria a utilização de suportes de baixo custo baseados em subprodutos industriais<sup>3</sup>.

O bagaço de malte, constituído basicamente pelas cascas da cevada malteada, é o principal subproduto da indústria cervejeira e se encontra disponível o ano todo, em grandes quantidades e a um baixo custo<sup>6</sup>. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade volumétrica em etanol na fermentação para produção de cerveja por processo contínuo a partir de mostos com elevadas concentrações de extrato original, utilizando bagaço de malte como suporte para a imobilização das leveduras.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Microorganismo e condições de cultivo

A levedura cervejeira *Saccharomyces cerevisiae* tipo *lager* foi o microorganismo utilizado nos experimentos. O cultivo do inóculo foi realizado em frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 250 mL de mosto puro malte com 10 °P, sob baixas condições aeróbicas, em uma incubadora de movimento rotatório (Cientec CT 713, Piracicaba, SP) a 200 rpm, 30 °C durante 30 horas.

### 2.2 Preparo do suporte de imobilização

O bagaço de malte foi inicialmente tratado com uma solução de HCl 3% (v.v<sup>-1</sup>) em uma relação sólido:líquido de 1:15 g:mL. Essa etapa foi realizada em um tanque de aço inoxidável de 125 L (volume total) sob agitação de 32 rpm, a 60 °C durante 2,5 horas. Após esse tempo, o material sólido residual foi separado por filtração em tecido 100% poliéster, lavado com água até pH neutro e secado em estufa elétrica a 50 ± 5 °C, até atingir aproximadamente 10% de umidade. Posteriormente, esse material foi tratado com uma solução de NaOH 2% (p.v<sup>-1</sup>), em uma relação sólido:líquido de 3:50 g:mL. Essa reação foi conduzida em frascos Erlenmeyer de 6 L (volume total) os quais foram mantidos em uma incubadora de movimento rotatório (Cientec CT 713, Piracicaba, SP) a 120 rpm, 30 °C durante 24 horas. Finalmente, o resíduo sólido obtido foi separado do licor por filtração em tecido 100% poliéster, lavado com água até pH neutro e secado em estufa a 50 ± 5 °C até atingir 10% de umidade. Este material foi então moído em moinho de facas (Manesco & Ranieri Ltda, Piracicaba, SP) e posteriormente peneirado. Apenas as partículas que passaram em peneira de 16 mesh (abertura 1,0 mm), e que ficaram retidas na de

28 mesh (abertura 0,6 mm), foram escolhidas para uso como suporte de imobilização durante a fermentação contínua.

### 2.3 Preparação dos mostos cervejeiros

Os mostos foram preparados com malte e adjunto de alto teor de maltose (MOR REX®1557, Corn Products Brasil) em uma relação adjunto:malte de 1:2,8. Diferentes concentrações de extrato original (10, 14,3, 15,2 e 19,6 °P) foram obtidas a partir de diluições (com água esterilizada) de um mosto base com uma concentração de extrato original de 22 °P.

### 2.4 Processo fermentativo

A fermentação contínua foi realizada em um reator de coluna de bolhas, de aço inoxidável, com capacidade total de 9,7 L, utilizando 5,2 L de volume de trabalho. Os mostos com diferentes concentrações de extrato original foram alimentados continuamente pela parte inferior do reator, através de uma bomba peristáltica, com uma taxa de diluição de 0,04 h<sup>-1</sup> (tempo de residência = 25 horas). O tubo de descarga (saída da cerveja) localizado na parte superior do reator continha uma malha de aço inoxidável com abertura de 0,26 mm para evitar possíveis perdas do suporte. Durante a fermentação, foi utilizado um fluxo de gases de 250 mL/min (200 mL/min de CO<sub>2</sub> e 50 mL/min de ar). Para cada concentração de extrato avaliada, o sistema foi considerado em estado estacionário após um período mínimo correspondente a 3 tempos de residência (75 horas).

A fermentação descontínua foi conduzida em um reator cilindro cônico de 180 L a 15 °C, utilizando 140 L de mosto com uma concentração de extrato original de 20 °P.

### 2.5 Métodos analíticos

A concentração de células imobilizadas no suporte foi determinada de acordo com BRÁNYIK et al.<sup>2</sup> e a concentração de células livres (não imobilizadas) em suspensão por peso seco a 105 °C. As concentrações de extrato no mosto (°P) e de etanol (% v.v<sup>-1</sup>) foram determinadas em um equipamento específico para análises de cerveja, Beer Analyser modelo DSA 5000 (Anton-Paar, Áustria).

### 2.6 Parâmetros fermentativos

Para avaliar o desempenho das fermentações, foram considerados os seguintes parâmetros fermentativos:

- Vazão específica de alimentação ou taxa de diluição (h<sup>-1</sup>):  $D = F.V^{-1}$ ;
- Tempo de residência no reator (h):  $t_r = 1.D^{-1}$ ;
- Produtividade volumétrica em etanol do processo contínuo (g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>):  $R_p = P_c.D$ ; e
- Produtividade volumétrica em etanol do processo descontínuo (g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>):  $Q_p = P_d.t^{-1}$ .

Sendo: F = vazão volumétrica de alimentação do meio (L.h<sup>-1</sup>); V = volume de meio no reator (L); P<sub>c</sub> = concentração de

etanol na saída do reator de coluna de bolhas ( $\text{g.L}^{-1}$ ); Pd = concentração de etanol dentro do reator cilindro cônico ( $\text{g.L}^{-1}$ ).

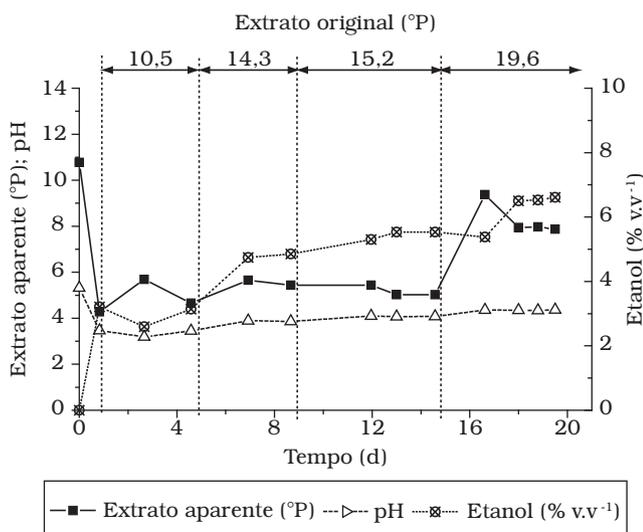
O grau Plato ( $^{\circ}\text{P}$ ) pode ser definido como as gramas de extrato equivalentes ao peso da sacarose, em 100 gramas de mosto a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

O extrato original (também conhecido como extrato primitivo, densidade primitiva ou mosto original) é a soma de todas as substâncias dissolvidas no mosto antes da fermentação<sup>4</sup>. Quando a concentração de extrato da cerveja fermentada é determinada através de um hidrômetro, a leitura em  $^{\circ}\text{P}$  é aparente devido à presença de um novo composto, o álcool. O álcool, por ser menos denso, causa uma leitura relativa em  $^{\circ}\text{P}$  ou aparente do extrato<sup>13</sup>.

### 3 Resultados e discussão

Os resultados revelaram que, na fermentação contínua dos mostos com malte e adjunto, o pH se manteve estável em aproximadamente 4, e a concentração de etanol nas cervejas à saída do reator aumentou quanto maior a concentração de extrato original dos mostos utilizados na alimentação (Figura 1). A concentração de extrato aparente também foi maior quando se utilizou mostos mais concentrados, porém, este aumento apenas foi evidenciado quando se utilizou o mosto de maior densidade específica ( $19,6\text{ }^{\circ}\text{P}$ ).

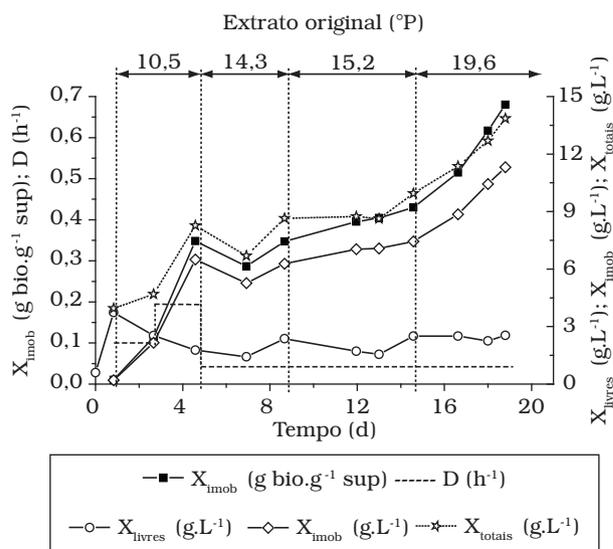
Com relação à concentração celular, observa-se na Figura 2 que houve um aumento significativo na concentração de leveduras imobilizadas nas partículas do suporte durante o estágio inicial de fermentação no reator de coluna de bolhas. Na verdade, a alimentação do reator com o mosto de baixa concentração de extrato original ( $10,5\text{ }^{\circ}\text{P}$ ) permitiu alcançar uma elevada concentração de células imobilizadas ( $>0,3\text{ g.cél.g}^{-1}\text{ sup}$ ) já nas primeiras 100 horas de fermentação.



**Figura 1.** Efeito da concentração de extrato original de mostos com malte e adjunto, na concentração de extrato aparente, etanol e pH, durante a fermentação primária para produção de cervejas de altas densidades por processo contínuo no reator de coluna de bolhas (Fluxo de gases:  $200\text{ mL/min}$  de  $\text{CO}_2$  e  $50\text{ mL/min}$  de ar; taxa de diluição:  $0,04\text{ h}^{-1}$ ; temperatura:  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Alguns autores, utilizando meio sintético para favorecer a adesão espontânea das leveduras cervejeiras na superfície das partículas de bagaço de malte, necessitaram de tempos maiores para obter  $0,3\text{ g.cél.g}^{-1}\text{ sup}$ , os quais variaram de 135 a 225 horas<sup>1,2</sup>. Logo, a metodologia utilizada no presente trabalho parece ser mais interessante por dois motivos: além de reduzir o tempo da etapa inicial de imobilização das leveduras, a utilização, durante esse período, de mostos elaborados com adjuntos e diluídos em substituição aos meios sintéticos, pode ser considerada como uma vantagem operacional e econômica dada a facilidade com que estes poderiam ser elaborados pela própria cervejaria, sem a necessidade de utilizar equipamentos e reagentes adicionais.

Durante o experimento, a concentração de células imobilizadas no bagaço de malte aumentou com o aumento da concentração do extrato original, atingindo um valor máximo de  $0,68\text{ g.cél.g}^{-1}\text{ sup}$  no final da fermentação. A concentração de células livres praticamente não foi influenciada pelo aumento da concentração de extrato original do mosto, mantendo-se constante em uma média de  $2,5\text{ g.L}^{-1}$  (Figura 2).

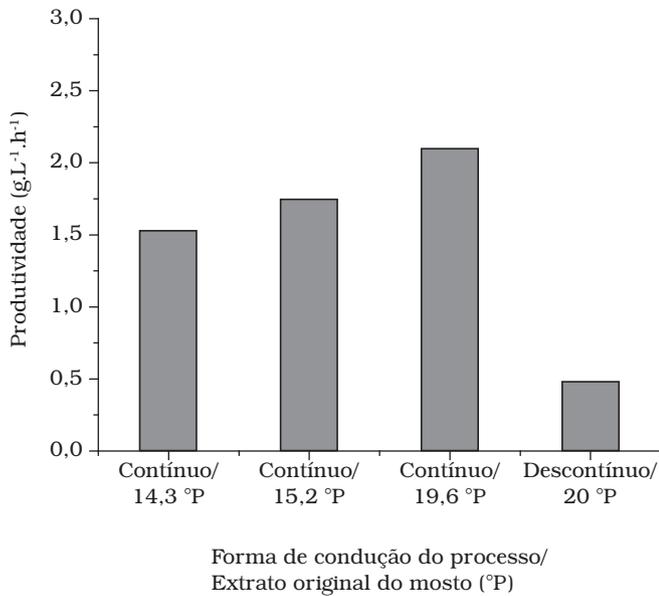


**Figura 2.** Efeito da concentração de extrato original de mostos com malte e adjunto, na concentração de células livres ( $X_{\text{livres}}$ ), imobilizadas ( $X_{\text{imob}}$ ) e totais ( $X_{\text{totais}}$ ), durante a fermentação primária para produção de cervejas de altas densidades por processo contínuo no reator de coluna de bolhas (Fluxo de gases:  $200\text{ mL/min}$  de  $\text{CO}_2$  e  $50\text{ mL/min}$  de ar; taxa de diluição,  $D$ :  $0,04\text{ h}^{-1}$ ; temperatura:  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

As produtividades volumétricas em etanol aumentaram na medida em que se utilizou um mosto com maior concentração de extrato original. O máximo valor obtido foi de  $2,09\text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$  para o mosto com  $19,6\text{ }^{\circ}\text{P}$ . Esse valor representa um aumento de 345% quando comparado com a produtividade máxima ( $0,47\text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) obtida na fermentação descontínua de um mosto cervejeiro com  $20\text{ }^{\circ}\text{P}$  (Figura 3).

### 4 Conclusões

Conclui-se, então, que o processo contínuo de fermentação de mostos com elevadas concentrações de extrato para



**Figura 3.** Produtividade volumétrica em etanol durante a fermentação para produção de cervejas a partir de mostos concentrados.

a produção de cerveja permite obter expressivos ganhos na produtividade em etanol quando comparado ao processo descontínuo, devido às elevadas concentrações de leveduras dentro do biorreator durante toda a fermentação. O próximo passo deste trabalho será avaliar a formação de compostos voláteis responsáveis pelo sabor das cervejas produzidas e o perfil sensorial destas em relação ao das cervejas de mercado elaboradas por processo descontínuo.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, FAPESP e CNPq, pelos apoios financeiros; e às empresas Corn Products Brasil, Malteria do Vale, Wallerstein Industrial & Comercial e Johnson-Diversey, pela doação das matérias-primas.

### Referências bibliográficas

- BRÁNYIK, T.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A. Continuous primary fermentation of beer – Yeast immobilization kinetics and product quality. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. especial, p. 74-79, março, 2005.

- BRÁNYIK, T.; VICENTE, A. A.; MACHADO CRUZ, J. M.; TEIXEIRA, J. A. Continuous primary beer fermentation with brewing yeast immobilized on spent grains. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 4, p. 410-415, 2002.
- DRAGONE, G.; MUSSATTO, S. I.; ALMEIDA e SILVA, J. B. Inovações na produção de cervejas. **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 35, p. 48-51, jul./dez. 2005.
- KUNZE, W. **Technology, Brewing and Malting: International Edition**. Berlin: VLB, 1996.
- LINKO, M.; HAIKARA, A.; RITALA, A.; PENTTILÄ, M. Recent advances in the malting and brewing industry. **Journal of Biotechnology**, v. 65, n. 2-3, p. 85-98, 1998.
- MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewer's spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 1, p. 1-14, 2006.
- ODUMERU, J. A.; D'AMORE, T.; RUSSEL, I.; STEWART, G. G. Effects of heat shock and ethanol stress on the viability of a *Saccharomyces uvarum* (*carlsbergensis*) brewing yeast strain during fermentation of high gravity wort. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 111-116, 1992.
- RUSSELL, I.; STEWART, G. G. Brewing. In: REHM, H. J.; REED, G.; PÜHLER, A.; STADLER, P. (Ed.) **Biotechnology. A Multi-volume Comprehensive Treatise. 2º ed. Enzymes, Biomass, Food and Feed**. Weinheim: VCH, 1995. p. 419-462.
- SCHMEDDING, D. J. M.; EVANS, D. J.; GROESBEEK, N. M. Developments to Increase Flexibility in Relation to Technological Innovations in Brewing. **MBAA Technical Quarterly**, v. 34, n. 1, p. 287-289, 1997.
- TATA, M.; BOWER, P.; BROMBERG, S.; DUNCOMBE, D.; FEHRING, J.; LAU, V.; RYDER, D.; STASSI, P. Immobilized yeast bioreactor systems for continuous beer fermentation. **Biotechnology Progress**, v. 15, n. 1, p. 105-113, 1999.
- VIRKAJÄRVI, I.; VAINIKKA, M.; VIRTANEN, H.; HOME, S. Productivity of immobilized yeast reactors with very-high-gravity worts. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 60, n. 4, p. 188-197, 2002.
- VIRKAJÄRVI, I. **Feasibility of continuous main fermentation of beer using immobilized yeast**. Espoo, 2001, 137 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia), VTT Technical Research Centre of Finland, Helsinki University of Technology.
- WALLIN, C. E. Laboratory methods and instruments. In: OCKERT, K. (Ed.) **Fermentation, Cellaring, and Packaging Operations**. Minnesota: MBAA, 2006. p. 209-244.
- WILLAERT, R.; NEDOVIC, V. A. Primary beer fermentation by immobilized yeast – a review on flavour formation and control strategies. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, n. 8, p. 1353-1367, 2006.