

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA POLITÉCNICA

Heberton Gomes Silva
Rafael Silva dos Santos

Efeito da radiação gama sobre o processo de maturação da cerveja.

São Paulo
2024

Heberton Gomes Silva
Rafael Silva dos Santos

Efeito da radiação gama sobre o processo de maturação da cerveja.

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia Química, da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Químico.

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Cecilia Tadini.

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Gondim de Andrade e Silva.

São Paulo

2024

FOLHA DE AVALIAÇÃO OU APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Aos familiares, pelo apoio incondicional durante esta jornada.

À Prof^a Dra. Carmen Cecilia Tadini pelo suporte, orientação e disponibilização de condições para que o trabalho fosse conduzido.

Ao Gerald, Ivan e demais pesquisadores/colaboradores do LEA, pela ajuda durante todo o processo experimental.

Ao Prof. Dr. Leonardo Gondim de Andrade e Silva e time de operação do CETER pela orientação e auxílio com infraestrutura.

Ao Prof. Dr. Jorge Massuo e equipe, pelo suporte para realização das análises.

Nossos sinceros agradecimentos, sem cada um de vocês, realizar este trabalho não seria possível.

EPÍGRAFE

*“Eu sinto falta da minha casa
Minha mãe sente minha falta
Tudo bem, essa é a vida que eu escolhi.
Desde pequeno falam que eu sou curioso
Quem me viu quem me vê
Fala que eu nunca cresci”*
Lagum (2021)

*“Se o barato é louco e o processo é lento,
No momento, deixa eu caminhar contra o
vento...”*
Racionais MC's (2002)

RESUMO

Este estudo aborda os efeitos da radiação ionizante sobre a maturação de cerveja do tipo Russian Imperial Stout (RIS), analisando parâmetros físico-químicos como acidez, pH e cor bem como avaliação de componentes-chave, com destaque para álcoois e ésteres. As amostras foram irradiadas com diferentes doses de radiação ionizante e submetidas a análises detalhadas. Os resultados mostraram uma redução da quantidade de ésteres e uma possível alteração do perfil aromático das amostras irradiadas, devido a presença de álcoois superiores frente às não irradiadas. Não foram observadas mudanças significativas na cor, seguindo escala EBC. O estudo não apontou alterações significativas na densidade, pH e acidez total das amostras irradiadas. Este estudo contribui para uma melhor compreensão dos efeitos da irradiação ionizante sobre o processo de maturação de cervejas RIS, fornecendo informações valiosas para a indústria cervejeira e áreas afins.

Palavras-chave: Cerveja, radiação, maturação.

ABSTRACT

This study addresses the effects of ionizing radiation on the maturation of Russian Imperial Stout (RIS) beer, analyzing physical-chemical parameters such as acidity, pH and color as well as evaluating key components, with emphasis on alcohols and esters. The samples were irradiated with different doses of ionizing radiation and subjected to detailed analysis. The results showed a reduction in the amount of esters and a possible change in the aromatic profile of the irradiated samples, due to the presence of higher alcohols compared to non-irradiated samples. No significant changes in color were observed, following the EBC scale. The study did not indicate significant changes in the density, pH and total acidity of the irradiated samples. This study contributes to a better understanding of the effects of ionizing irradiation on the maturation process of RIS beers, providing valuable information for the brewing industry and related areas.

Keywords: Beer, radiation, maturation

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABV - Álcool por Volume

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CETER - Centro de Tecnologia das Radiações

CNEN - Nucleares da Comissão Nacional de Energia Nuclear

EBC - *European Brewery Convention*, escala de cores utilizada no setor cervejeiro

EUA - Estados Unidos da América

FG - Densidade final

IEA - International Agency Atomic

IPEN - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

IQ-USP - Instituto de Química da Universidade de São Paulo

LAB - Escala de cores utilizada para comparação

LEA-USP - Laboratórios de Engenharia de Alimentos da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo

PIB - Produto Interno Bruto

kGy - Kilo Gray

ODS - Objetivo de Desenvolvimento Sustentável

ONU - Organização das Nações Unidas

OMS - Organização Mundial da Saúde

MeV - Mega elétron-volt

RIS - Russian Imperial Stout

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	8
SUMÁRIO	9
1. INTRODUÇÃO	9
1.1. O mercado da cerveja no Brasil	9
1.2 Processo de produção	9
1.3 O processo de maturação da cerveja	12
1.4 Irradiação de alimentos e bebidas	12
2. OBJETIVOS	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Equipamentos e reagentes	15
3.2 Seleção do tipo de cerveja e doses de radiação	16
3.3 Procedimento experimental.	17
3.3.1 Coleta das amostras	17
3.3.2 Irradiação	17
3.3.3 Análises físico-químicas	19
3.3.3.1 Identificação de compostos voláteis	20
3.3.3.2 Análise colorimétrica	20
3.3.3.3 Determinação de pH e Acidez total	21
3.3.3.4 Quantificação de ésteres totais	21
3.3.3.5 Densimetria	22
4. Resultados e discussão	23
4.1 Coleta de amostras e Irradiação	23
4.2 Identificação de compostos voláteis	24
4.3 Análise colorimétrica	25
4.4. Determinação de pH e acidez total	27
4.5. Quantificação de ésteres totais	28
4.6. Densimetria	29
4.7 Comparação com a literatura	30
5. CONCLUSÃO	32
6. REFERÊNCIAS	33
7. ANEXOS	35

1. INTRODUÇÃO

1.1. O mercado da cerveja no Brasil

A cerveja desempenha papel significativo na sociedade brasileira, sendo mais do que apenas uma bebida alcoólica. Ela está profundamente enraizada na cultura do país, sendo um elemento essencial em celebrações, festividades e eventos sociais.

Além disso, o setor cervejeiro tem um impacto relevante na economia do país, formando um mercado que produz 16,1 bilhões de litros por ano (atrás apenas de China e EUA) e gera mais de 2 milhões de empregos em toda a cadeia de produção, desde a agricultura de cevada e lúpulo até a fabricação e distribuição, com a geração de R\$ 77 bilhões em faturamento no último exercício fechado, equivalente a 2% do PIB e em plena expansão (MAPA, 2023).

Figura 1 – Dados do setor cervejeiro no Brasil.



Fonte: SINDISERV (2024).

1.2 Processo de produção

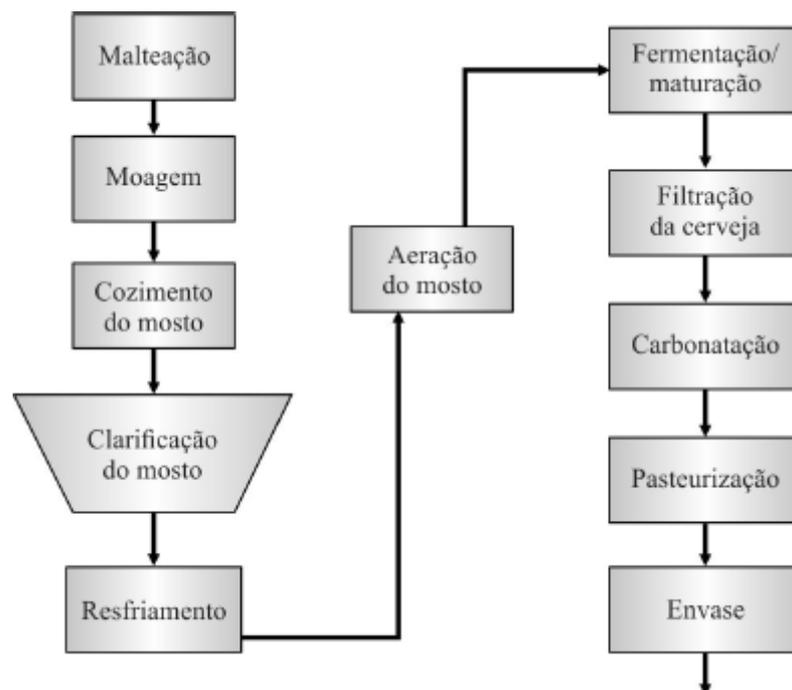
Segundo Tadini et al. (2018), cerveja é produzida em uma sucessão de operações unitárias que transformam seus insumos (malte, maltose, água própria para a fabricação de

cerveja, lúpulo e levedura - *Sacharomyces cerevisiae*) em uma mistura composta por álcool, gás carbônico, carboidratos (glicose, maltose, dextrinas), minerais (cálcio, fósforo, enxofre), proteínas e aminoácidos e vitaminas do complexo B.

Nas cervejarias, o produto é obtido em três etapas importantes de processo: infusão, cozimento e fermentação (TADINI, 2018). No entanto, a fabricação de uma bebida com alta qualidade requer uma série de operações que tornam a cervejaria uma fábrica de alta complexidade, onde a aplicação de tecnologia é combinada com o “estado da arte” a tradições culturais.

O diagrama de processo de uma planta processadora de cerveja, apresentado na Figura 2, ilustra de maneira simples todas as etapas de produção envolvidas, desde a obtenção do malte até o envase da cerveja que será enviada para os pontos de venda.

Figura 2 – Diagrama de blocos do processo de produção de cerveja.



Fonte: TADINI et al. (2018), p. 15.

O processo tem início com a formação do mosto, mistura de malte e água, seguida pelo processo de cozimento realizado geralmente em três etapas de temperatura, variando de acordo com a receita. Inicialmente, a temperatura varia entre 40 °C e 50 °C para promover a proteólise, seguida por um aumento de temperatura para a faixa de 54 °C a 65 °C para a hidrólise do amido, e finalmente atingindo 70 °C para facilitar a separação do mosto.

Em uma segunda etapa, o mosto é submetido a um processo de aquecimento até a temperatura de ebulição após a adição do lúpulo, responsável pelo sabor amargo da cerveja. Esta etapa tem vários objetivos, incluindo a eliminação de bactérias, fungos e leveduras concorrentes, extração de compostos amargos indesejáveis, coagulação das proteínas em excesso e taninos, formação de cor e sabor, remoção de voláteis indesejáveis e concentração dos açúcares (TADINI, 2018).

Posteriormente, ocorre a separação do mosto para a retirada de partículas em suspensão e material coagulado, seguida pelo resfriamento até temperaturas mais brandas e aeração do mosto, fundamental para o crescimento das células de levedura. Em seguida, é realizada a dosagem do fermento, tipicamente na concentração entre 5 e 20×10^6 células/mL de mosto (TADINI, 2018).

Na fermentação, a levedura utiliza açúcares e proteínas para produzir álcool, CO_2 , novas células e compostos flavorizantes. Este processo normalmente é realizado em tanques verticais providos de válvulas controladoras de pressão do gás carbônico produzido, mantendo um nível de pressão adequado para garantir a efervescência da cerveja (TADINI, 2018).

Após a fermentação, o fermento começa a flocular devido à falta de substrato, e o produto conhecido como cerveja verde é então clarificado e resfriado, removendo-se a massa celular de leveduras para obter uma cerveja transparente e de sabor adequado. Em seguida, a cerveja verde, clarificada e resfriada até a uma temperatura inferior a 0°C , é mantida nos tanques para a formação de turbidez por flocos de polipeptídios e polifenóis, garantindo uma boa estabilidade coloidal no produto final e permitindo a maturação do sabor (TADINI, 2018).

A filtração é então realizada para obter uma cerveja brilhante e espumante que permanecerá transparente durante sua vida de prateleira, ocorrendo em duas etapas. Por fim, a carbonatação é feita para ajustar a pressão de CO_2 e adicionar outros componentes, como caramelo para realçar a cor. O processo de pasteurização é realizado em trocadores de calor tipo placas compostos de três seções, mantendo a temperatura em tubo de retenção para garantir a segurança do produto, e o envase pode ser feito a granel ou em embalagens menores (latas ou garrafas) (TADINI, 2018).

1.3 O processo de maturação da cerveja

A maturação da cerveja é crucial para a qualidade do produto final. A sua importância reside no fato de proporcionar transformações físico-químicas específicas, desencadeando uma série de eventos que refinam o sabor, aroma e a estabilidade da bebida. Esta etapa permite a redução de compostos indesejados e a formação de ésteres e fenóis, conferindo complexidade aromática à bebida. Além disso, à medida que partículas em suspensão se sedimentam, o resultado é uma consequente clarificação da cerveja, tornando-a mais límpida (TADINI, 2018).

Essa etapa implica no armazenamento da bebida, após a fermentação, em tanques com temperaturas normalmente abaixo de 0 °C por um período estipulado para cada tipo de cerveja, visando a precipitação de leveduras e proteínas, e o aprimoramento do sabor e aroma, com a formação de turbidez por flocos de polipeptídeos e polifenóis (TADINI, 2018), além da redução de compostos indesejados, como o diacetil (2,3 butanodiona) e DMS (dimetil sulfeto). Os elementos mais significativos do aroma geralmente consistem nos fenólicos (pertencentes aos grupos dos flavonóides, polifenóis e estilbenos), álcoois superiores e ésteres Montanari* (1999 apud WYLER, 2013). Apesar disso, durante o processo de maturação da cerveja, não há mudança significativa de álcoois superiores e de ácidos graxos, mas existe o aumento da concentração de ésteres, como o acetato de etila, acetato de isoamila, caprilato de etila e caproato de etila, trazendo aromas mais intensos e complexos à bebida (BENTO, CARVALHO, SILVA; 2007).

1.4 Irradiação de alimentos e bebidas

Conforme a Resolução-RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001, um alimento irradiado é aquele que passou por um processo de irradiação com doses inferiores ao limiar das reações nucleares, evitando assim a indução de radioatividade na matéria. Tais alimentos devem ser tratados em instalações licenciadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), com dosimetria quantitativa do alimento devidamente registrada. As fontes de radiação autorizadas incluem isótopos radioativos (Co-60 e Cs-137), raios X gerados em máquinas de até 5 MeV e elétrons gerados em máquinas de até 10 MeV. Além disso, o rótulo do produto irradiado deve conter a declaração "Alimento tratado por processo de irradiação", com letras com pelo menos $\frac{1}{3}$ do tamanho da maior frase na rotulagem.

A irradiação de alimentos demonstra ser eficaz na prevenção de perdas pós-colheita e na garantia da qualidade sanitária. Além de reduzir a carga microbiana e desinfestar grãos e frutas, essa técnica também inibe o brotamento de raízes e tubérculos, melhorando as características tecnológicas dos alimentos. Devido à sua capacidade de penetração, a radiação pode ser aplicada diretamente na embalagem final, evitando a recontaminação. Uma vantagem adicional é que esse processo não eleva a temperatura, o que poderia alterar as propriedades físico-químicas dos alimentos (PODADERA, 2007).

O método de irradiação de bebidas tem sido objeto crescente de estudos, pois há evidências de que alguns componentes, como aldeídos, taninos e teor de cobre (em alambiques de cachaça), são influenciados, resultando em uma aceleração parcial do processo de maturação ou envelhecimento e, conseqüentemente, em mudanças em suas propriedades (SOUZA, 2004).

Assim a irradiação se apresenta como uma ferramenta promissora no combate ao desperdício alimentar e à fome, oferecendo uma alternativa segura e eficaz, embora ainda pouco explorada no Brasil. Esse método pode prolongar a vida útil e melhorar a qualidade dos alimentos, contribuindo para reduzir perdas pós-colheita e aumentar a competitividade dos produtos agropecuários e alimentícios no mercado global (EMBRAPA, 2021), se conectando de maneira intensa com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Organizações Unidas (ODS - ONU) 2 e 9, de Erradicação da Fome e Indústria, Inovação e Infraestrutura, respectivamente.

2. OBJETIVOS

Avaliar o efeito da radiação ionizante sobre o processo de maturação da cerveja do tipo *Russian Imperial Stout*, por meio da avaliação de parâmetros físico-químicos, incluindo a concentração de compostos voláteis, pH, densidade e cor em amostras com diferentes doses de radiação incidida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Nos tópicos que se seguem estão descritos os procedimentos experimentais adotados, bem como os equipamentos e reagentes utilizados.

Os procedimentos foram realizados em dois momentos: o primeiro teve como objetivo validar a viabilidade de execução e ajustes de coordenação experimental, dada a importância de realizar todas as etapas no menor intervalo de tempo possível, a fim de minimizar interferências provenientes do envelhecimento natural da bebida. Posteriormente realizou-se uma nova bateria de análises, em duplicata, com foco na confiabilidade dos dados obtidos.

3.1 Equipamentos e reagentes

A seguir estão elencados todos os equipamentos, vidrarias e reagentes utilizados na realização dos experimentos:

- Cromatógrafo a gás com injetor de headspace e detector espectrômetro de massa;
- Frascos de amostra de 50 mL;
- Pipeta de 15 mL.
- Colorímetro (HunterLab, ColorQuest XE, EUA);
- Cubeta de quartzo;
- Lenço macio;
- Álcool absoluto;
- Pipeta volumétrica de 25 mL;
- pHmetro (TECNAL, Tec-3MP, Brasil);
- Agitador magnético;
- Barra magnética;
- Béquer de 250 mL;
- Erlenmeyer de 250 mL;
- Pipeta volumétrica de 50 mL;
- Bureta de 10 mL;
- Pipeta graduada de 1 mL.
- Balança analítica;
- Picnômetro de 10 mL.
- Chapa elétrica de aquecimento;
- Erlenmeyer de 250 mL com junta esmerilhada;

- Pipeta volumétrica de 50 mL;
- Condensador de refluxo (de Graham com 60 cm de altura);
- pHmetro Tec-3MP da TECNAL.
- Solução de hidróxido de sódio 0,1 M;
- Solução de ácido sulfúrico 0,1 M.

3.2 Seleção do tipo de cerveja e doses de radiação

Com o intuito de maximizar o impacto do resultado da pesquisa, buscou-se trabalhar com um estilo de cerveja que requeresse um longo tempo em seu processo original de maturação, destacando-se nesse aspecto a cerveja do tipo *Stout*. O estilo de cerveja selecionado foi a *Russian Imperial Stout*, que exige longos períodos de maturação, cerca de 45 dias.

Esse estilo de cerveja apresenta um forte caráter tostado, com teor alcoólico geralmente entre 6% e 8% ABV, embora algumas mantenham um teor superior a 10% ABV. Tem sabor encorpado e seco, com notas de chocolate e uvas-passas.

A cerveja da primeira rodada de experimentos foi a *Gorilla Maple & Café*, uma RIS com Maple e Café da Trilha Cervejaria®, ABV 12%. Ela possui um período de maturação de 45 dias a frio em tanques de inox com temperatura controlada.

A cerveja utilizada na segunda rodada foi a Croma Kong®, uma RIS artesanal da cervejaria Croma Beer® com café, cacau, coco e baunilha. O gargalo de produção dessa RIS encontra-se justamente no tempo de maturação, correspondente ao mínimo de 45 dias a frio (temperaturas próximas a 0 °C) e posteriormente até 1 ano e meio no barril de carvalho (similar ao método utilizado para envelhecimento de outras bebidas).

Foram consultados os trabalhos pautados na irradiação de cachaça, com doses entre 0,1 kGy e 10 kGy, (SOUZA, 2004) e de cerveja, com doses entre 0,4 kGy e 1,2 kGy, (DELCOUR, 1986). Além disso, tomou-se como referência os dados de *Food Irradiation* da OMS (URBAN, 1988) para irradiação de alimentos, conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Dose de radiação e seus objetivos para os respectivos grupos de alimentos.a

Classificação da dose (kGy)	Objetivo	Produtos
Baixa (Até 1 kGy)	Inibição de germinação; Desinfecção de insetos e parasitas; Inibição de Processos físicos (como, por exemplo, amadurecimento).	Tubérculos, grãos, frutas e vegetais frescos.
Média (1 - 10 kGy)	Eliminação de microrganismos patogênicos e redução de esporos fúngicos; Melhoria das propriedades tecnológicas dos alimentos.	Frutos do mar e carnes (frescos e congelados); Aumento de rendimento da extração de suco de uva.
Alta (10 - 50 kGy)	Esterilização industrial; Descontaminação de ingredientes, aditivos e alimentos.	Carnes e dietas hospitalares; Especiarias e goma natural.

Fonte: Adaptada pelos autores de URBAN (1988), p. 34.

3.3 Procedimento experimental.

Nos tópicos que se seguem estão descritos os procedimentos experimentais adotados. Os procedimentos foram realizados em duas etapas: a primeira teve como objetivo verificar a viabilidade de realização e ajustes de coordenação experimental, dada a importância de realizar todas as etapas no menor intervalo de tempo possível, a fim de minimizar interferências provenientes do envelhecimento natural da bebida. Posteriormente realizou-se uma nova bateria de análises, em duplicata, com foco na confiabilidade dos dados obtidos.

3.3.1 Coleta das amostras

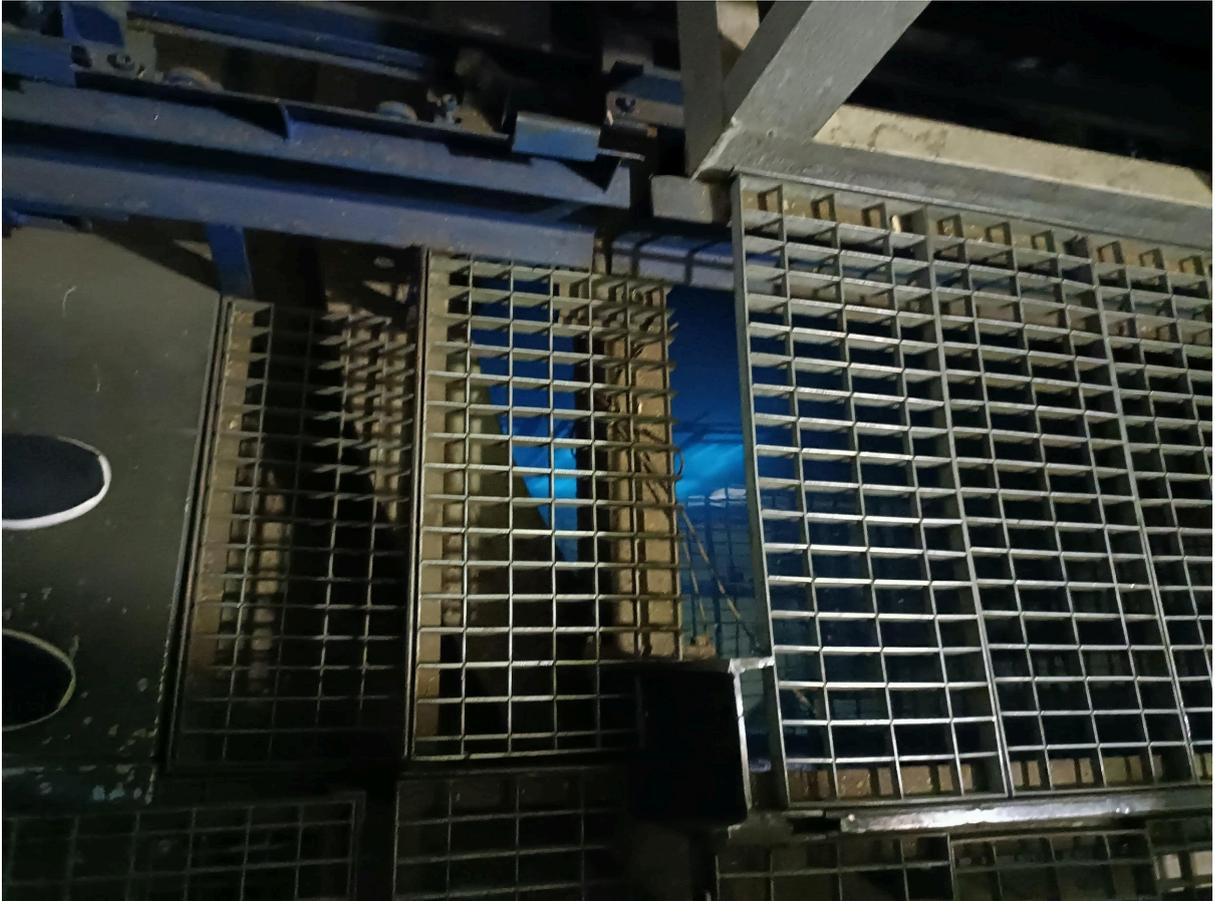
As amostras de cerveja foram coletadas diretamente na sede da Croma Beer[®], Vila Madalena, São Paulo, SP, imediatamente após o período de fermentação e envasadas na cervejaria seguindo os procedimentos locais. Após o envase, as cervejas foram encaminhadas o mais rápido possível para o local de irradiação.

3.3.2 Irradiação

As amostras foram encaminhadas ao Irradiador Multipropósito do IPEN, localizado no CETER – IPEN/CNEN (Centro de Tecnologia das Radiações do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Comissão Nacional de Energia Nuclear), apresentado na Figura 3, cerca de 45 min após a coleta.

Neste equipamento, as amostras receberam diferentes doses baseadas no tempo de residência e distância da fonte de Co - 60, como apresentadas na Tabela 2. Em caso de necessidade de mesma dose de radiação em mais de uma amostra, as garrafas foram dispostas de modo espelhado ao redor da fonte de radiação.

Figura 3 - Foto interna do Irradiador Multipropósito de Co-60 do IPEN.



Fonte: Autores (2024).

Tabela 2 – Amostras e suas respectivas doses de radiação gama absorvidas pelas amostras da cerveja Gorilla Maple & Café (Trilha Cervejaria®).

Amostra Irradiada	Dose alvo (kGy)	Volume (mL)
1 T	1	300
2 T	2	300
5 T	5	300
10 T	10	300

Fonte: IPEN, Adaptada pelos autores (2024).

Tabela 3 – Amostras e suas respectivas doses de radiação gama absorvidas Croma Kong (Croma Beer®).

Amostra Irradiada	Dose alvo (kGy)	Volume (mL)
1 A	1	375
1 B	1	375
2 A	2	375
2 B	2	375
5 A	5	375
5 B	5	375

Fonte: IPEN, Adaptada pelos autores (2024).

As amostras foram irradiadas durante diferentes períodos de modo a atingir uma das seguintes doses-alvo: 0, 1, 2, 5 e 10 kGy.

Como forma de controle, todas as amostras receberam um dosímetro, utilizado para determinar a dose real incidida em cada garrafa por meio de espectrofotometria. Este procedimento foi inteiramente realizado por profissionais capacitados do CETER, de acordo com a RDC N° 21/2001 da ANVISA.

Ao final da irradiação, as amostras foram encaminhadas para a realização das análises.

3.3.3 Análises físico-químicas

As análises realizadas tiveram como objetivo avaliar as alterações na quantidade de ésteres, álcoois, acetaldeído e acidez total das amostras controle (0 T, 0 A e 0 B) em relação às amostras irradiadas. Os métodos e análises utilizados para tal podem ser verificados na Tabela 3 e seguem os procedimentos descritos por (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Cada um dos ensaios foi feito em duplicata dentro de cada amostra com exceção da colorimetria (realizada em triplicata).

Tabela 4 – Análises e métodos adotados.

Análise	Método/equipamento
Quantificação de ésteres totais	Saponificação
Mensuração de álcoois, acetaldeído e ésteres	CG/MS - Headspace
Gradação alcoólica	Densimetria
Acidez total	Volumetria ácido-base
Cor	Colorimetria
Medição de pH	pHmetro

Fonte: Instituto Adolfo Lutz (2008).

Foram retiradas alíquotas de cada amostra recém irradiada para cada uma das análises, conforme descrito abaixo. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de Massas

(CG/MS) foi realizada na Central Analítica do IQ-USP e os demais procedimentos foram realizados no LEA-USP.

3.3.3.1 Identificação de compostos voláteis

Com o objetivo de preservar a composição das amostras durante o período em que as amostras permaneceram na fila de análises da Central Analítica, alíquotas de 20 mL de cada amostra foram submetidas a congelamento em freezer vertical, a temperatura inferior à -18 °C.

A CG/MS se deu nas seguintes condições:

- Cromatógrafo: CGMS-Q2020 Shimadzu Corporation
- Gás de arraste: Hélio
- Injetor: AOC-5000 Plus
- Coluna: VF-WAXMS 30m x 0,25 mm x 0,5 µm
- Temperatura de injeção: 200 °C
- Temperatura do forno: 40 °C
- Tipo de injeção: split
- Split ratio: 1
- Vazão total: 4,6 mL/min
- Volume injetado: 2,5 µL-HS
- Tempo total da corrida: 1850 s

Através da comparação gráfica dos cromatogramas gerados, foi possível detectar os impactos sobre os principais compostos voláteis da cerveja.

3.3.3.2 Análise colorimétrica

Para detectar possíveis alterações na coloração da bebida, submeteu-se todas as amostras em triplicata ao colorímetro.

O equipamento informa a cor da amostra em formato LAB, com 3 coordenadas (L^* , a^* e b^*) que permitem realizar comparações colorimétricas entre diferentes amostras, através da diferença total de cor, calculada pela Equação 1. Diferenças, em relação à controle, na cor

perceptível podem ser classificadas analiticamente como muito distintas ($\Delta E > 3$), distintas ($1,5 < \Delta E < 3$) e diferenças pequenas ($1,5 < \Delta E$) (PATHARE, 2013).

$$\Delta E_{1,2} = \sqrt{(L_2 - L_1)^2 + (a_2 - a_1)^2 + (b_2 - b_1)^2} \quad (01)$$

Adicionalmente, o espectro LAB de cada amostra foi convertido para formato EBC a fim de proporcionar comparação dentro da escala utilizada no controle de qualidade do mercado cervejeiro. Para esta conversão foram utilizados os softwares ASPOSE[©] e Brew-Engine[©].

3.3.3.3 Determinação de pH e Acidez total

Para essa análise foram coletadas alíquotas de 25 mL de cada amostra, cujo pH inicial foi medido com o auxílio do pHmetro calibrado no mesmo dia da análise. Em seguida, titulou-se a amostra com solução de hidróxido de sódio 0,1 M previamente padronizada com biftalato de potássio.

Pelo fato de as cervejas do tipo RIS serem muito escuras, a identificação do ponto de viragem utilizando indicadores baseados em mudança de cor é muito prejudicada. Para contornar esta situação, a volumetria foi conduzida com medição constante do pH até atingir a neutralização.

A acidez é dada em termos de massa de ácido acético por 100 mL de cerveja e pode ser calculada através da Equação 2.

$$m_{HAc (g/100 mL)} = V_{NaOH} \cdot M_{NaOH} \cdot MM_{HAc} \quad (02)$$

3.3.3.4 Quantificação de ésteres totais

Esta análise foi realizada sequencialmente e com a mesma alíquota de cada amostra da análise de acidez. Após a neutralização, adicionou-se excesso de 5 mL de NaOH 0,1 M (padronizado), e acoplou-se o erlenmeyer a um condensador de refluxo, deixando a solução em ebulição refluxo por uma hora sobre chapa de aquecimento a 150 °C. Passado este tempo, a amostra foi vedada e deixada em repouso por no mínimo 12 h.

Então adicionou-se mais 5 mL da solução de NaOH 0,1 M seguido de 30 min em refluxo.

Por fim, resfriou-se a solução, adicionou-se 5 mL de H₂SO₄ 0,1 M e titulou-se o excesso de ácido sulfúrico com NaOH 0,1 M.

A concentração de ésteres totais foi obtida através da Equação 3:

$$m_{EtAc} = MM_{EtAc} \cdot (\eta_{NaOH} \cdot V_{NaOH} - 2 \cdot \eta_{H_2SO_4} \cdot V_{H_2SO_4}) \quad (03)$$

3.3.3.5 Densimetria

Utilizou-se um picnômetro de 10 mL para calcular a densidade relativa de cada amostra. Cada teste foi realizado em triplicata e substituiu-se o valor médio das massas na Equação 4.

$$dens. \text{ relativa} = \frac{m_{pic \text{ cerveja}} - m_{pic \text{ vazio}}}{m_{pic \text{ água}} - m_{pic \text{ vazio}}} \quad (04)$$

4. Resultados e discussão

A seguir estão apresentados os resultados obtidos durante a pesquisa, seguidos da devida discussão.

4.1 Coleta de amostras e Irradiação

Conforme mencionado no item 3.1, foram realizadas coletas de amostras em dois dias diferentes, identificadas conforme a Tabela 5. Devido a questões logísticas, não foi possível adquirir amostras da mesma receita nos dois dias, e embora ambas sejam do tipo RIS, é esperado que haja variações nos resultados obtidos entre os dias.

Tabela 5 – Análises e métodos adotados.

Nome da amostra	Data da coleta	Dosimetria (kGy)	Taxa (kGy/h)
0 T	02/02/2024	0,00	-
1 T	02/02/2024	0,93	2,78
2 T	02/02/2024	3,00	3,30
5 T	02/02/2024	6,15	4,57
10 T	02/02/2024	11,69	5,14
0 A	22/03/2024	0,00	-
0 B	22/03/2024	0,00	-
1 A	22/03/2024	1,03	2,85
1 B	22/03/2024	1,03	2,85
2 A	22/03/2024	1,97	2,98
2 B	22/03/2024	1,97	2,98
5 A	22/03/2024	5,10	3,19
5 B	22/03/2024	5,10	3,19

Fonte: Autores (2024).

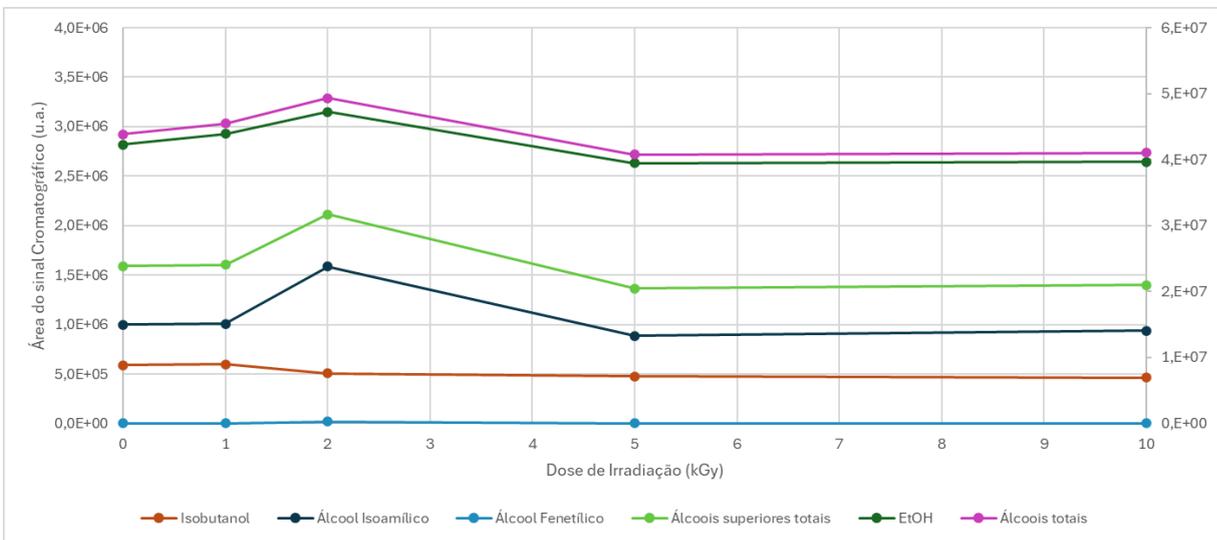
Como pode ser observado uma das amostras sofreu irradiação até a dose final de 10 kGy na primeira rodada de testes, porém essa dose foi descontinuada no evento seguinte em função de seus resultados insatisfatórios (além dos parâmetros mostrados a seguir, esta cerveja apresentou odor forte e desagradável).

A respeito das doses de radiação efetivamente recebidas, percebeu-se uma pequena diferença em relação à quantidade alvo prevista na metodologia em função do próprio tempo que as garrafas ficaram no interior do irradiador, sobretudo no primeiro dia. Vale destacar também o sucesso em espelhar as garrafas em torno da fonte de irradiação, posicionando-as a uma mesma distância do Co-60 e obtendo portanto dose equivalente em cada amostra.

4.2 Identificação de compostos voláteis

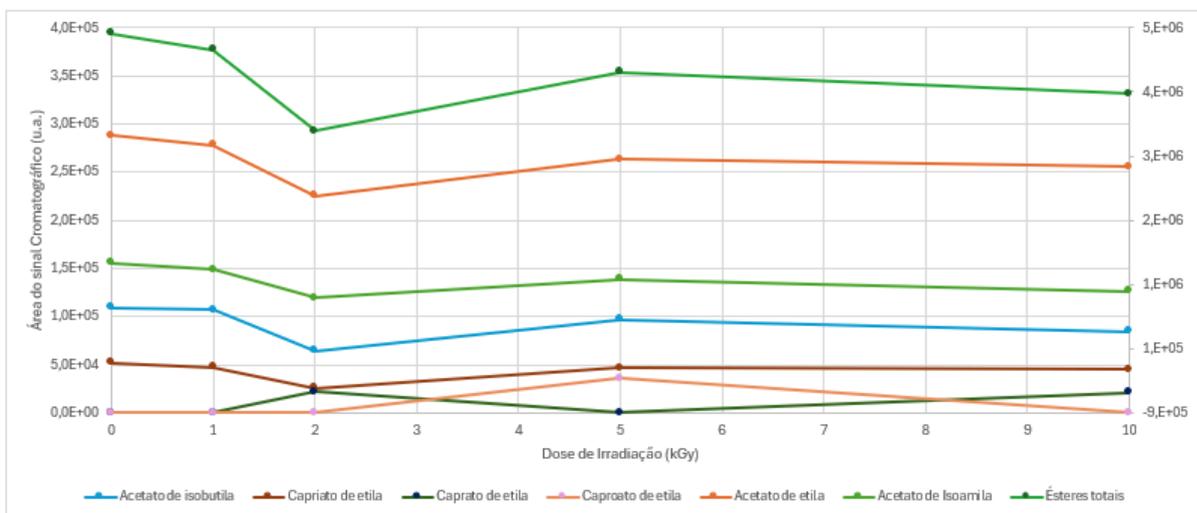
Os álcoois superiores desempenham um papel crucial no aroma e sabor da cerveja, mesmo que em pequenas quantidades. Alguns dos álcoois superiores mais relevantes incluem o n-propanol, o isobutanol, o 2-metil-1-butanol e o 3-metil-1-butanol. Além disso, os ésteres, produzidos durante a fermentação, também são essenciais para conferir à cerveja um aroma e sabor frutado distintivo, com destaque para o acetato de etila e o acetato de isoamila (ARAÚJO, SILVA, MINIM; 2003). Os voláteis mensurados na análise, apresentados nas Figuras 4 e 5, apresentam as características mostradas na Tabela 6.

Figura 4 - Gráfico da área do sinal cromatográfico para álcoois das amostras da 1ª irradiação

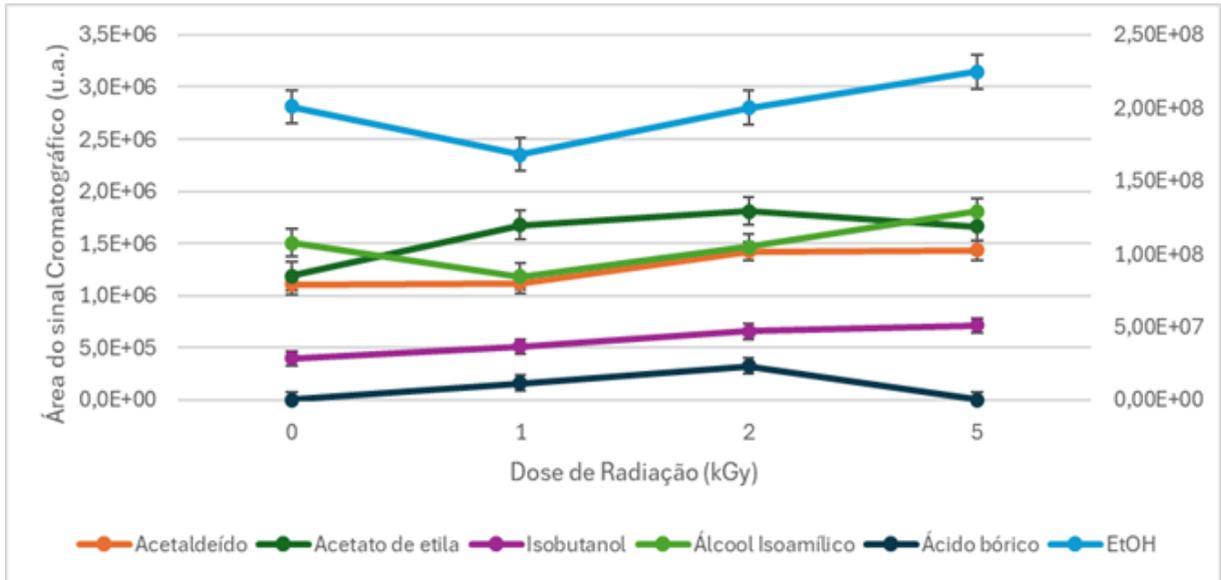


Fonte: Autores (2024).

Figura 5 - Gráfico da área do sinal cromatográfico para ésteres da 1ª irradiação



Fonte: Autores (2024).



Fonte: Autores (2024).

Tabela 6 - Características das moléculas encontradas na cromatografia gasosa das amostras.

Nome da molécula	Características
Acetato de Isoamila	Aroma de frutas secas, banana ou pera
Acetato de Etila	Aroma de frutas
Acetato de Isobutila	Aroma de frutas
Álcool Isoamílico	Provoca sensação de aquecimento na boca
Álcool Fenólico	Notas de rosas adocicadas
Caprato de Etila	Aroma semelhante a conhaque
Caproato de Etila	Aroma de abacaxi
Etanol	Resultante da fermentação da cerveja
Isobutanol	Aroma de fruta madura

Fonte: Adaptado de OLIVER (2020), p. 31-66.

De maneira geral, observa-se a redução das áreas dos picos de ésteres, em especial na amostra irradiada com 2 kGy. Por outro lado, nota-se que há maior formação de álcoois superiores para a mesma dose, o que pode indicar uma alteração relevante no perfil aromático da bebida.

Nas amostras do dia 22/03, apesar da menor diversidade de compostos, nota-se um aumento da concentração de acetato de etila, principal éster da cerveja. Ao mesmo tempo, os álcoois seguem perfil contrário de mudança, diminuindo sua concentração em doses de radiação intermediária. Vale destacar o acréscimo de acetaldeído nesta cerveja, que também

contribui para a alteração das características sensoriais, conhecido por apresentar sabor “de maçã-verde”.

4.3 Análise colorimétrica

O espectro LAB completo de cada amostra pode ser consultado no Anexo 2. A partir desta informação, calculou-se o parâmetro ΔE sob três pontos de vista (quando aplicável): Comparação entre amostras com mesma dose; comparação entre uma amostra controle específica (0 T, 0 A ou 0 B) e as demais; comparação entre a média das amostras de controle e a média das amostras de cada dose. Os resultados estão expressos nas tabelas a seguir, acompanhados das respectivas incertezas:

Tabela 6 – Comparativo da análise de cor entre a amostra controle e as amostras irradiadas da cerveja Gorilla Maple & Café.

Comparativo	$\Delta E \pm \sigma$
0 T x 1 T	0,56±0,42
0 T x 2 T	1,51±0,49
0 T x 5 T	0,69±0,36
0 T x 10 T	0,1±0,13

Fonte: Autores (2024).

Tabela 7 – Comparativo da análise de cor entre as amostras A e B da cerveja Croma Kong.

Comparativo	$\Delta E \pm \sigma$
0 A x 0 B	1,46±0,90
1 A x 1 B	1,15±0,33
2 A x 2 B	2,29±0,63
5 A x 5 B	1,61±0,36

Fonte: Autores (2024).

Tabela 8 – Comparativo da análise de cor entre a amostra controle A e as irradiadas da cerveja Croma Kong.

Comparativo	$\Delta E \pm \sigma$
0 A x 1 A	2,29±0,67
0 A x 1 B	1,14±0,64
0 A x 2 A	0,83±0,85
0 A x 2 B	2,29±0,63
0 A x 5 A	2,55±0,66
0 A x 5 B	0,99±0,69

Fonte: Autores (2024).

Tabela 9 – Comparativo da análise de cor entre a amostra controle B e as irradiadas da cerveja Croma Kong.

Comparativo	$\Delta E \pm \sigma$
0 B x 1 A	0,85±0,72
0 B x 1 B	0,31±0,68
0 B x 2 A	2,25±0,89
0 B x 2 B	0,07±0,64
0 B x 5 A	1,11±0,7
0 B x 5 B	0,51±0,72

Fonte: Autores (2024).

Tabela 10 – Comparativo da análise de cor entre a amostra controle (média de A e B) e as irradiadas (média de A e B) da cerveja Croma Kong.

Comparativo	$\Delta E \pm \sigma$
0 x 1 (A e B)	0,99±0,57
0 x 2 (A e B)	0,39±0,68
0 x 5 (A e B)	1,03±0,58

Fonte: Autores (2024).

Analisando as variações de cor em escala LAB, nota-se que as amostras ora apresentam diferença na cor até mesmo comparando as amostras com mesma dosagem de radiação recebida e ora apresentam mesma cor para diferentes doses, o que impossibilitou determinar um padrão de alteração de cor decorrente da irradiação. Esse fenômeno pode ser

explicado pela complexa composição da bebida, com proteínas, açúcares e levedura em suspensão, dificultando a homogeneidade da amostra.

Avaliando os resultados na escala EBC (Anexo 2), menos sensível do que a escala LAB, nota-se que não ocorreram alterações significativas na cor de nenhuma amostra, logo, do ponto de vista do controle de qualidade da indústria cervejeira, pode-se dizer que a irradiação não afetou a cor das cervejas tipo RIS, permanecendo todas na faixa de 128 EBC.

4.4. Determinação de pH e acidez total

Abaixo estão dispostos o pH inicial de cada amostra, junto de sua acidez total (expressa em g de ácido acético/100 mL de cerveja), determinados imediatamente após a irradiação:

Tabela 11 – pH e acidez das amostras de cerveja estilo RIS, com seus respectivos erros.

Amostra	pH	Acidez (g HAc/100 mL)
0 T	4,61±0,01	0,52±0,03
1 T	4,59±0,01	0,54±0,03
2 T	4,51±0,01	0,53±0,03
5 T	4,52±0,01	0,52±0,03
10 T	4,51±0,01	0,56±0,03
0 A	4,67±0,01	0,41±0,03
0 B	4,71±0,01	0,40±0,03
1 A	4,72±0,01	0,43±0,03
1 B	4,68±0,01	0,42±0,03
2 A	4,72±0,01	0,40±0,03
2 B	4,71±0,01	0,44±0,03
5 A	4,75±0,01	0,40±0,03
5 B	4,75±0,01	0,41±0,03

Fonte: Autores (2024).

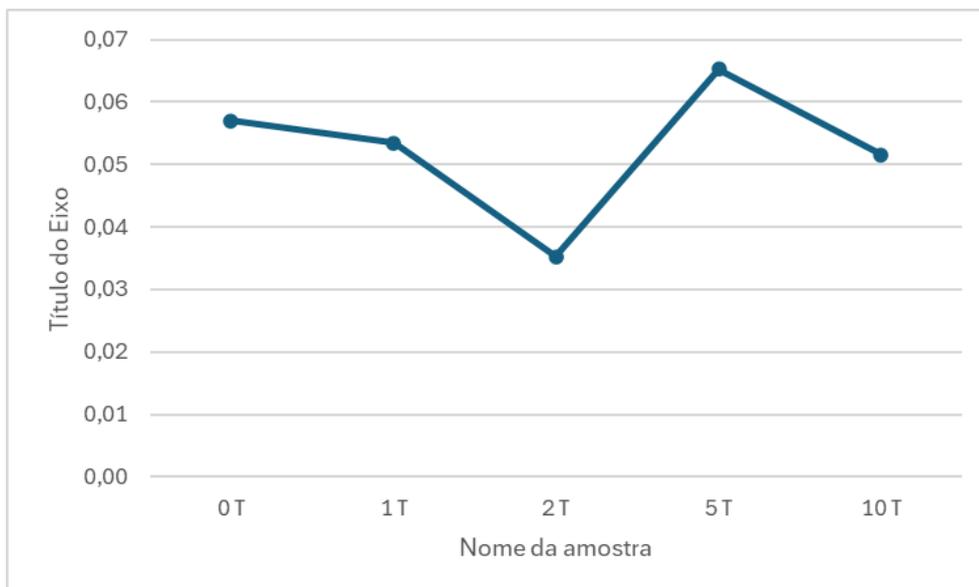
Com base nos resultados obtidos, há indícios de que a radiação não afetou significativamente o pH e a acidez de nenhuma das amostras, com variações de pH inferiores a 0,1 e acidez estatisticamente inalteradas. O aumento do pH pode favorecer a multiplicação

de bactérias e a redução (acidificação), pode vir a favorecer a ação de fungos e leveduras (TADINI, 2018), isto significa que o método não afeta em absoluto a multiplicação de bactérias e fungos benéficos para a maturação da cerveja.

4.5. Quantificação de ésteres totais

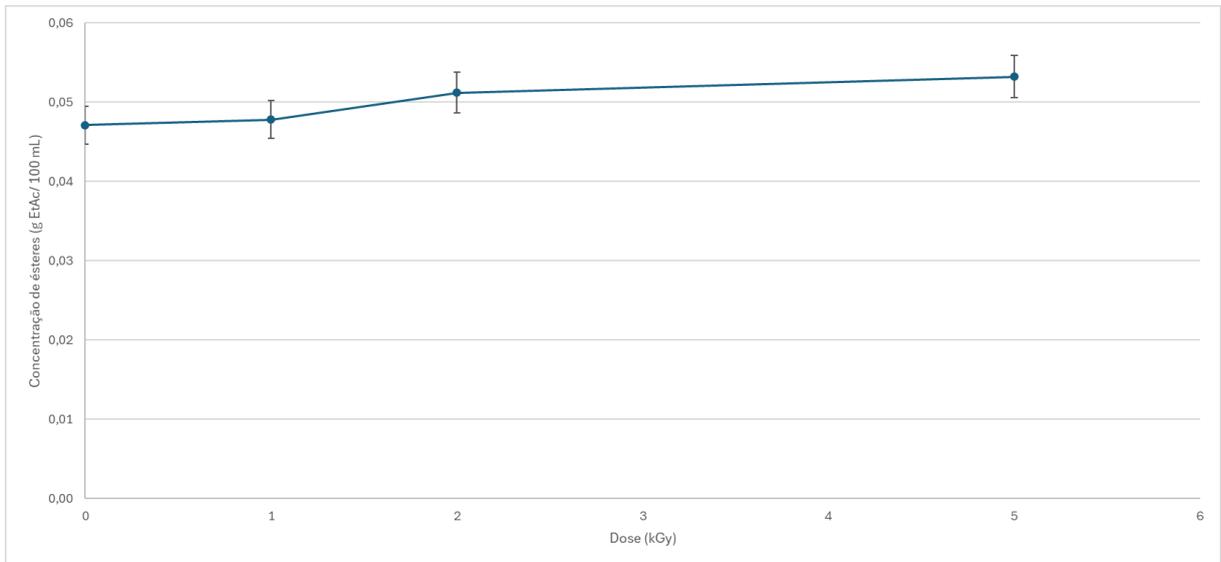
Na Figura 6, referente às amostras da 1ª irradiação, observa-se o comportamento condizente com o perfil do cromatograma apresentado no item 4.2, com redução progressiva até a amostra irradiada com 2 kGy, seguido de retorno ao nível inicial de ésteres presentes. No entanto, essa análise indicou um possível ligeiro aumento na quantidade de ésteres sob dosagem de 5 kGy nas duas rodadas experimentais. As cervejas da 2ª irradiação aparentam ter sofrido maior impacto na dose de 1 kGy, indicando que as cervejas podem não responder de maneira uniforme a este tratamento. Em conformidade com a CG/MS, as amostras irradiadas em março apresentaram aumento progressivo de ésteres, indicando que esse efeito está condicionado pela própria composição inicial da cerveja.

Figura 6: Concentração de ésteres totais nas na 1ª irradiação.



Fonte: Autores (2024).

Figura 7: Concentração de ésteres totais na segunda irradiação.



Fonte: Autores (2024).

4.6. Densimetria

A Tabela 12 expressa a densidade calculada de cada amostra:

Tabela 12 – Densidade relativa das amostras da cerveja Croma Kong.

Amostra	Densidade relativa (g/mL)
0 A	1,068±0,01
0 B	1,066±0,01
1 A	1,068±0,01
1 B	1,068±0,01
2 A	1,067±0,01
2 B	1,067±0,01
5 A	1,067±0,01
5 B	1,067±0,01

Fonte: Autores (2024).

Por uma falha experimental, não foram registradas as densidades das amostras do dia 02/02, no entanto, nota-se que a radiação não afetou imediatamente a densidade das demais amostras.

A variação de densidade na cerveja é característica em momentos onde ocorrem transformações químicas com liberação de gases, por exemplo, durante a fermentação. Portanto, apesar de a CGMS mostrar que há a produção de CO₂ e esta é inclusive acelerada em determinado intervalo, esta quantidade não apresenta indícios de ser suficiente para prejudicar o padrão de FG das receitas.

4.7 Comparação com a literatura

Com os resultados consolidados dos efeitos da radiação gama sobre a maturação de cervejas do tipo RIS, realizou-se uma comparação com outros estudos conduzidos em bebidas alcoólicas. DELCOUR (1986) irradiou amostras comerciais de cerveja *Belgian Pilsner*, obtendo os resultados resumidos na Tabela 13.

Tabela 13 – Efeitos da radiação gama para cerveja *Pilsner*.

Análise	0 kGy	0,4 kGy	0,8 kGy	1,2 kGy
Álcool (% em massa)	4,00	4,00	4,05	4,05
pH	4,19	4,18	4,18	4,19
Cor (EBC)	7,5	5,0	4,5	4,5
Acetaldeído (mg/L)	2,1	3,9	6,2	7,4
Etil acetato (mg/L)	17,3	17,9	18,3	17,4
Acetato de Isoamila (mg/L)	0,8	0,9	0,9	0,8
N-propanol (mg/L)	7,7	7,5	7,2	6,9
Isobutanol (mg/L)	6,4	6,5	6,6	6,1
Álcool Isoamílico (mg/L)	58,9	56,3	57,6	54,7

Fonte: DELCOUR (1986).

Nota-se que a irradiação pode levar a um aumento na concentração de acetaldeído livre devido à diminuição do dióxido de enxofre total e livre na cerveja. No entanto, a irradiação não afetou significativamente o conteúdo de vários compostos na cerveja, porém causou odores desagradáveis, como de enxofre e autólise de leveduras, tornando a cerveja irradiada inaceitável (DELCOUR, 1986).

Apesar disso, quando observa-se outras bebidas alcoólicas, a radiação exerce um papel diferente. Para o vinho de jabuticaba, as características observadas com a aplicação de doses

de irradiação de 5 e 10 kGy foram consideradas apropriadas para o processo de envelhecimento por meio da irradiação (PIRES, 2018). Na cachaça, a irradiação afeta a concentração de várias substâncias, como acetaldeído e metanol, dentro dos limites legais(SOUZA, 2004). Acontecem também mudanças no pH e na cor, sem impacto significativo no aroma e sabor, indicando que a irradiação pode ser uma opção viável para melhorar bebidas alcoólicas, dependendo do tipo de bebida e dose de radiação aplicada (SOUZA, 2004).

5. CONCLUSÃO

Foi observado que a incidência de radiação ionizante proporcionou aumento da concentração de álcoois superiores na composição da cerveja Gorilla e Croma Kong, apresentando potencial para alterar o perfil sensorial da bebida e agregar maior complexidade de aromas e sabores, sem prejudicar os parâmetros físico-químicos analisados.

Quanto à formação de ésteres, o estudo apontou dependência entre a produção e o tipo da receita, não sendo conclusivo a respeito das condições necessárias para acelerar o processo de maturação.

6. REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução-RDC nº 21, de 26 de Janeiro de 2001**. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/rdc0021_26_01_2001.html>. Acesso em: 7 de abril de 2024.
- ARAÚJO, F. B. SILVA, P. H. A. MINIM, V. P. R. **Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro**. Campinas: Ciência Tecnologia dos Alimentos, 121-128, 2003.
- BENTO, C., CARVALHO, G., SILVA, J. **Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 3º parte–A maturação**. São Paulo: Revista Analytica, 27, 2007.
- DELCOUR, A. et al. **The effects of gamma-irradiation of Pilsner beer**. Vol. 92, pp. 591-593. Leuven - Belgium: J. Inst. Brew, 1986.
- EMBRAPA. **Tecnologia de alimentos - Irradiação**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/tipos-de-processos/irradiacao>>. Acesso em: 7 de abril de 2024.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- PATHARE, P. B. **Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review**. Omã, 2013.
- PIRES, J. A. **Efeito da radiação gama (60Co) em fermentado de jabuticaba, tipo vinho tinto**. São Paulo: IPEN/CNEN, 2018.
- PODADERA, P. **Estudo das propriedades do açúcar líquido invertido processado com radiação gama e feixe de elétrons**. São Paulo: IPEN, 2007.
- OLIVER, G. **O guia Oxford da cerveja**. São Paulo: Editora Blucher, 2020.
- SOUZA, M. D. C. A. DEL MASTRO, N. L. **Efeito da Radiação Gama na Aguardente de Cana-de-Açúcar**. São Paulo: Brazilian Journal Food Technology, v. 7, n. 1, p. 9-15, jan./jun., 2004.
- TADINI, C. C. et al. **Operações unitárias na indústria de alimentos**. 1. ed. Rio de Janeiro : LTC, 2018.

WYLER, P. **Influência da madeira de carvalho na qualidade da cerveja**. Piracicaba: ESALQ - USP, 2013.

7. ANEXOS

Anexo 1 - Área do sinal cromatográfico de compostos voláteis das mostras do dia 02/02

Molécula	Dosagem (kGy)				
	0	1	2	5	10
Carbamic acid, monoammonium salt	29557927	0	0	27657987	28458263
Acetato de etila	3420003	3270295	2480072	3049769	2929927
EtOH	42251620	43894323	47215326	39440453	39636888
Acetato de isobutila	109122	106763	64476	96751	84508
Isobutanol	590202	596772	505330	478096	462879
Acetato de Isoamila	1429532	1329716	892992	1175806	994279
Álcool Isoamílico	999539	1008945	1587417	886862	936331
Capriato de etila	52162	47407	25875	46586	44713
1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethy	27181	0	0	0	27878
CO2	0	33356981	22031340	0	0
Humuleno	0	23726	0	0	0
Caprato de etila	0	0	21921	0	21375
Álcool Fenetílico	0	0	18274	0	0
Caproato de etila	0	0	0	36058	0
Ésteres totais	5010819	4754181	3485336	4404970	4074802
Voláteis totais	78437288	83634928	74843023	72868368	73597041
Álcoois totais	43841361	45500040	49326347	40805411	41036098
Álcoois superiores totais	1589741	1605717	2111021	1364958	1399210

Anexo 2 - Espectro de cor das amostras

ID	L*	a*	b*	EBC
0T_1	2,67	0,05	0,56	127,9
0T_2	2,67	0,01	0,41	127,9
0T_3	2,78	-0,08	0,46	127,9
1T_1	2,25	-0,4	0,27	127,9
1T_2	2,59	-0,33	0,29	127,9
1T_3	2,24	-0,4	0,15	127,9
2T_1	4,23	-0,06	0,04	127,8
2T_2	4,07	-0,23	-0,35	127,8
2T_3	3,9	0,03	-0,24	127,8
5T_1	3,45	-0,1	0,51	127,9
5T_2	3,33	0,06	0,34	128,0
5T_3	3,36	-0,09	0,15	127,9
10T_1	2,72	0	0,63	128,0
10T_2	2,67	0,03	0,63	128,0
10T_3	2,73	-0,06	0,56	128,0
0A_1	4,08	-0,22	0,13	127,8
0A_2	4,79	0,03	0,24	127,8
0A_3	4,7	0,26	0,11	127,8
0B_1	3,36	0,05	0,33	127,9
0B_2	2,59	-0,25	0,41	127,9
0B_3	3,37	-0,3	0,57	127,9
1A_1	2,2	-0,04	0,24	128,0
1A_2	2,34	-0,1	0,6	128,0
1A_3	2,24	-0,09	0,55	128,0
1B_1	3,41	0,07	0,41	127,9
1B_2	3,37	-0,15	0,37	127,9
1B_3	3,44	-0,21	0,35	127,9
2A_1	4,94	-0,03	0,2	127,7
2A_2	5,48	0,21	0,37	127,7
2A_3	5,6	-0,07	0,3	127,7
2B_1	3,11	-0,29	0,58	127,9
2B_2	3,04	-0,09	0,26	127,9
2B_3	3,04	0,04	0,47	127,9
5A_1	2,05	-0,1	0,45	128,2
5A_2	1,97	-0,27	0,37	128,2
5A_3	1,97	-0,18	0,63	128,2
5B_1	3,53	0,15	0,02	127,8
5B_2	3,69	-0,17	0,8	127,8
5B_3	3,57	-0,1	0,67	127,8