

PRINCÍPIOS DA PRODUÇÃO CERVEJEIRA E AS ENZIMAS NA MOSTURAÇÃO

.....



GABRIEL GERBER HORNINK

2022

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Autores: Gabriel Gerber Hornink

Editoração: Gabriel Gerber Hornink

Revisão: Alex Uzêda de Magalhães e Bruno

Apoio à editoração: Marlom César da Silva

Capa e contracapa: Gabriel Gerber Hornink

Imagem da capa: construída com elementos do canva.com, a imagem da estrutura da enzima α -amilase (<https://www.rcsb.org/structure/1AMY>) e logos.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

1ª Edição

Alfenas–MG

UNIFAL–MG

2022

© 2022 Direitos reservados aos autores. Direito de reprodução do livro é de acordo com a Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998. Qualquer parte desta publicação pode ser reproduzida, desde que citada a fonte.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Disponível em:

<<https://www.unifal-mg.edu.br/bibliotecas/fontes-de-informacao/e-books>>



Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 Centro – Alfenas – Minas Gerais – Brasil – CEP: 37.130-001

Reitor: Sandro Amadeu Cerveira

Vice-reitor: Alessandro Antonio Costa Pereira

Sistema de Bibliotecas da UNIFAL-MG / SIBI/UNIFAL-MG

Autores: Gabriel Gerber Hornink

Revisão: Alex Uzêda de Magalhães e Bruno Martins Dala Paula

Apoio à editoração: Marlom César da Silva

Capa e contracapa: Gabriel Gerber Hornink

Imagem da capa: construída com elementos do canva.com, a imagem da estrutura da enzima α -amilase (<https://www.rcsb.org/structure/1AMY>) e logos.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

H816h	Gerber Hornink, Gabriel, 1980 – Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação Gabriel Gerber Hornink. – Alfenas: Unifal-MG, 2022 96 f.: il -- ISBN: 978-65-86489-61-3 - e-book Disponível em: https://www.unifal-mg.edu.br/bibliotecas/fontes-de-informacao/e-books Inclui Bibliografia 1. Ciência cervejeira. 2. Mosturação. 3. Enzimas. I. Título. CDD-641.2
-------	---

Ficha Catalográfica elaborada por Marlon Cesar da Silva
Bibliotecário-Documentalista CRB6-2735



Fonte: O autor

Dos insumos ao copo, fazer cerveja é um ato de muita dedicação, estudo e amor.

(O autor)

Lista de abreviaturas

ABV	<i>alcohol by volume</i>
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BASI	<i>Barley α-amylase/ Subtilisin Inhibitor</i>
BJCP	<i>Beer Judge Certification Program</i>
BU	<i>Bitterness Unit</i>
EBC	<i>European Brewery Convention</i>
EC	<i>Enzyme Commission Number</i>
EPI	Equipamento de proteção individual
ES	Complexo enzima substrato
DME	<i>Dry Malt Extract</i>
DMS	Dimetilsulfeto
FAN	<i>Free Amino-Nitrogen</i>
FAO-OMS	<i>Food and Agriculture Organization-Organização Mundial de Saúde</i>
GU	<i>Gravity Unity</i>
HERMS	<i>Heat Exchange Recirculation Mash System</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IAR	Índice de amargor relativo
IDC	<i>Iodine Dextrin Color</i>
IBU	<i>International Bitterness Unit</i>
IDC	<i>Iodine Dextrin Color</i>
KZ	Índice de Kolbach
K_M	Constante de Michaelis-Menten
LOX	Lipoxigenase
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
ppm	Partes por milhão
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PET	Polietileno tereftalato
ppb	Partes por bilhão
RNA	Ácido ribonucleico
RIMS	<i>Recirculating Infusion Mash System</i>
SRM	<i>Standard Reference Method</i>
VZ	Índice Hartong

Sumário

APRESENTAÇÃO.....	7
1 PRINCIPAIS ETAPAS DA PRODUÇÃO CERVEJEIRA.....	8
2 PRINCIPAIS INSUMOS.....	15
2.1 Água.....	16
2.2 Malte de cevada.....	20
2.3 Adjuntos.....	26
2.4 Lúpulo.....	28
2.5 Leveduras e outros microrganismos cervejeiros.....	34
2.6 Demais insumos de origem animal ou vegetal.....	38
2.7 Aditivos e coadjuvantes de tecnologia de fabricação.....	38
3 INTRODUÇÃO ÀS ENZIMAS.....	41
4 ENZIMAS DO MALTE.....	46
5 FATORES DE INFLUÊNCIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA NA MOSTURA.....	58
5.1 pH.....	59
5.2 Temperatura.....	61
6 PODER DIASTÁTICO.....	63
6.1 Estrutura e degradação do amido.....	63
6.2 Cálculo do poder diastático.....	70
7 ATUAÇÃO DAS ENZIMAS NA MOSTURAÇÃO.....	72
7.1 Aquecimento.....	73
7.2 Rampas de temperatura.....	75
7.3 Síntese das rampas de temperatura.....	82
8 ENZIMAS COMERCIAIS.....	85
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	88
REFERÊNCIAS.....	89
AUTOR.....	93
REVISORES.....	94
CONTATO.....	95
INDICAÇÃO DE OUTROS MATERIAIS.....	96

Apresentação

A produção cervejeira artesanal e caseira se caracterizou como um fenômeno de crescimento na última década, destacando o aparecimento de centenas de cervejarias artesanais – nano ou microcervejarias, além da expansão dos rótulos das cervejarias industriais. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) registrou 1337 novas cervejarias entre 2002 e 2020, um total de 1383 cervejarias registradas, o que é um forte indício desse crescimento e da demanda do consumidor por cervejas diferenciadas.

Nesse âmbito também cresceu o público de cervejeiros caseiros, interessados em produzir sua própria bebida, além do público degustador de cervejas especiais/artesanais. Nesse contexto, compreender a ciência cervejeira se tornou cada vez mais importante, para garantir um produto diferenciado e com qualidade, assim como uma boa e consciente experiência sensorial.

Dentre as etapas de produção, destaca-se a etapa da mosturação, na fase quente, durante a qual ocorrem as extrações e conversões de diversos compostos para preparação do mosto que é entregue às leveduras para fermentação. Nesta fase se destacam as ações das enzimas presentes nos próprios grãos de maltes, responsáveis, por exemplo, pela hidrólise do amido (rompimento de suas ligações glicosídicas), de proteínas, além de outras reações.

As enzimas desempenham importantes papéis pois aumentam significativamente a velocidade da reação a partir da redução da energia de ativação, ou seja, reduzindo a energia necessária para se alcançar o estado de transição para que a reação ocorra. As enzimas, independente de suas fontes, estão presentes em grande parte do processo cervejeiro, desde a malteação, passando pela mosturação, fermentação, até sua maturação.

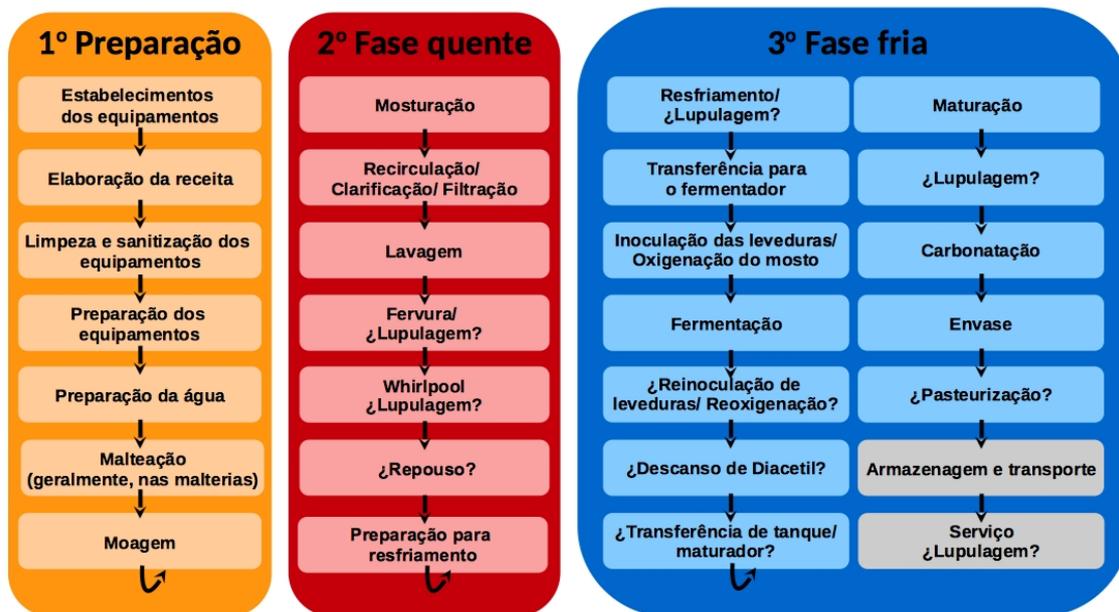
Serão apresentados neste *ebook* a síntese das etapas de produção de cerveja (fases preparatória, quente e fria), com um resumo dos principais insumos, focando nas enzimas que atuam na mosturação, apresentando seus dados técnicos e indicando os fatores que influenciam suas atividades durante a produção e os possíveis impactos para o produto final. Para auxiliar na compreensão dos termos usados, poderão utilizar o eBook [“Glossário cervejeiro: da cultura à ciência”](#).

Para finalizar, são apresentadas algumas enzimas comerciais que podem ser utilizadas como coadjuvantes de tecnologia de fabricação e podem potencializar alguns aspectos da produção.

1 Principais etapas da produção cervejeira

O fluxo da produção cervejeira é muito similar, mesmo com a diversidade de modelos e volumes de produção encontrados, envolvendo as fases da preparação, fase fria, fase quente, até a distribuição e serviço da bebida. Para tanto, apresenta-se o fluxograma sintético (Figura 1) proposto por Hornink e Galembeck (2019), a partir do qual podem ser realizadas adaptações, inserindo, adaptando ou retirando etapas (na imagem, indicam-se etapas flexíveis/opcionais com ¿?).

Figura 1 – Fluxo da produção cervejeira por fase (preparação, quente e fria)



Fonte: Hornink e Galembeck (2019).

O panorama das etapas de produção é importante para a compreensão das ações das enzimas durante a mosturação (primeira etapa da fase quente) e seus impactos sensoriais no produto final, sendo uma das etapas de extrema importância pré-fermentação. Por exemplo, uma moagem muito grossa dos grãos de malte de cevada poderá resultar na baixa conversão (pelas enzimas) do amido em açúcares fermentescíveis, gerando uma bebida com menor teor alcoólico.

Destaca-se que há ações de enzimas em outras etapas, como durante a fermentação e maturação, neste caso, estas são dos microrganismos envolvidos no processo (principalmente leveduras cervejeiras), sendo primordiais para produção da cerveja por estes microrganismos. Neste capítulo serão focadas as enzimas da mosturação, como uma das etapas chaves, prévia à fermentação, e que será a principal responsável pela preparação do mosto com os açúcares fermentescíveis e demais nutrientes para as leveduras.

Para se ter um panorama da produção, no qual a mosturação se insere, apresentam-se a seguir as fases e suas etapas de forma sintética:

Preparação:

As etapas que envolvem a preparação são primordiais para garantir a eficiência do processo, padronização dos lotes e a qualidade da bebida, devendo ser bem planejada e executada:

- **Estabelecimento dos equipamentos:** determinam-se os equipamentos, volumes, eficiências, operações de produção etc.;
 - Montagem da cozinha cervejeira: monobloco (*single vessel*), bibloco, tribloco, quadribloco;
 - Sistema de aquecimento: direto (chama ou resistência); direto – RIMS (*Recirculating Infusion Mash System*); indireto, com recirculamento constante – HERMS (*Heat Exchange Recirculation Mash System*);
- **Elaboração da receita e processos:** detalham-se os insumos e procedimentos tendo em vista o resultado sensorial pretendido;
 - Tipo de mosturação: infusão (simples ou múltipla); decocção (simples ou múltipla); rampas de temperatura (paradas);
 - Escolha dos procedimentos: etapas da brassagem (como circulação, clarificação, lavagem, métodos de trasfega etc.);
 - Controle da temperatura: equipamentos e procedimentos para garantir a temperatura em cada etapa.
- **Limpeza e sanitização dos equipamentos:** garante-se um produto livre de compostos tóxicos ou contaminantes por procedimentos específicos;
- **Preparação dos equipamentos:** garante-se a ergonomia do processo produtivo e redução de tempo dispendido;
- **Preparação da água:** garante-se a padronização dos lotes e resultados sensoriais esperados na bebida, uniformizando o perfil físico-químico da água (pH, pOH, dureza e sais presentes);
- **Malteação dos cereais:** garante-se a ativação/produção de enzimas necessárias na mosturação, assim como as modificações nos carboidratos, proteínas e lipídios;
- **Moagem – *grist*:** propicia-se a exposição com componentes do malte, como amido, proteínas e enzimas ao meio aquoso durante a mosturação. O excesso ou a má moagem resultam em problemas na etapa quente e no produto final.

Fase quente:

Esta fase abrange um conjunto de etapas para produção da bebida, colocando-se em prática o que fora planejado na fase preparatória. Inicia-se a produção com a inserção dos grãos moídos (*grist*) na tina de mosturação e da água na temperatura adequada para atividade enzimática planejada, dando-se o prosseguimento com a mosturação e demais etapas.

Considera-se a mosturação uma das principais etapas da fase quente, pois nesta etapa haverá a ação das enzimas sobre o amido e proteínas (além da extração de diversos compostos), por exemplo, sendo o mosto resultante determinante para a ação das leveduras e bebida final. Ao fim da mosturação, tem-se a fase de inativação das enzimas (*mash-out*) para manutenção do perfil do mosto, seguido de etapa de recirculação/clarificação, lavagem do malte e fervura. Geralmente a lupulagem ocorre em momentos distintos durante a fervura. Ao fim da fervura, cria-se um redemoinho (*whirlpool*) para precipitação de particulados maiores, com a consequente redução da turbidez, enviando-se o mosto resultante para resfriamento (início da fase fria).

Durante a fase quente, a preocupação com a contaminação é reduzida devido a temperatura elevada do mosto, entretanto, ao se iniciar a fase fria, a atenção para a sanitização e cuidados de higiene devem ser redobrados.

- **Mosturação:** Os maltes e demais grãos moídos são arriados sobre a água cervejeira, na proporção indicada na receita e na temperatura inicial para se alcançar a temperatura alvo da primeira rampa. Extraem-se os substratos para fermentação da cerveja e demais compostos de interesse, destacando a ação das enzimas sobre as biomoléculas, resultando no mosto que será usado na fermentação. Há diversos métodos, sendo: por infusão; por decocção; por rampas de temperatura. Nesta fase o controle da temperatura é essencial para a atividade adequada das enzimas e obtenção do perfil de mosto desejado;
- **Recirculação/Clarificação:** Recircula-se o mosto, usando-se a própria camada de cascas de malte na tina de mosturação como filtro para clarificação. Pode-se realizá-la manualmente ou com auxílio de bombas (há esquemas de montagem que não incluem essa etapa);
- **Lavagem:** Utiliza-se água em temperatura e pH adequado para lavar os resíduos de interesse (como carboidratos fermentescíveis), podendo ser de forma contínua, por batelada ou contínua. Esta etapa aumenta a eficiência da brassagem por gerar maior aproveitamento dos insumos (há esquemas de montagem que não incluem essa etapa);
- **Fervura/Lupulagem?:** Destacam-se na fervura os objetivos: reduzir/eliminar os microrganismos presentes no mosto; evaporar o DMS (dimetilsulfeto) formado;

isomerizar os α -ácidos dos lúpulos (gosto amargo). A lupulagem pode ocorrer em vários momentos da fervura, com objetivos distintos (amargor, gosto, odor/aroma). Há possibilidade do uso de aditivos para clarificação nessa fase, auxiliando na formação de um *trub* mais compacto;

- **Whirlpool/Lupulagem?**: Cria-se um redemoinho, ao fim da fervura, para precipitação dos restos de lúpulo, proteínas de maior peso molecular e outros componentes. Forma-se um cone de precipitados ao fundo (*trub*), contribuindo para a clarificação do mosto. É possível inserir o lúpulo também nessa fase;
- **Repouso?**: Pode-se ter uma pequena fase de repouso (pouco tempo) para que se termine a decantação após o *Whirlpool*;
- **Preparação para o resfriamento**: Incluem-se as ações para que se inicie o resfriamento (etapa dependente do tipo de resfriamento (*chiller* de imersão, contrafluxo, placas etc.).

Fase fria:

Esta fase se desenvolve a partir do resfriamento do mosto até a entrega da bebida pronta ao consumidor. Uma vez que as temperaturas das etapas são baixas, tornam-se ainda mais relevantes os cuidados com a sanitização dos equipamentos, o uso de vestuários adequado para reduzir os riscos (máscara, touca e uniforme apropriado) e os demais cuidados de higiene para evitar a contaminação do mosto ou da cerveja.

Apresentam-se de forma sintética as possíveis etapas, na sequência de produção, sendo que, de acordo com a escala e o estilo produzido haverá diferenças quanto aos equipamentos e processos:

- **Resfriamento/Lupulagem?**: Deve-se resfriar o mosto quente rapidamente para envio ao fermentador, uma vez que o resfriamento lento possibilita a produção de DMS e gera maior risco de contaminação. A temperatura final é dependente da levedura que se utilizará (geralmente entre 10 e 25 °C). Para se resfriar o mosto, pode-se usar *chiller* de imersão (serpentina inserida na tina/panela com passagem de água fria), *chiller* de contrafluxo ou *chiller* de placas (mais eficiente e comum na indústria). Há métodos de lupulagem que ocorrem nessa fase, como a técnica de *hop back*, na qual se passa o mosto por filtros contendo lúpulo no caminho para o resfriamento, antes de ser enviado ao fermentador;
- **Transferência para o fermentador**: Pode-se utilizar a própria gravidade ou bombas sanitárias para envio do mosto ao fermentador, podendo se criar um efeito de cascata (*splash*) para incorporação parcial de oxigênio no mosto ou utilizar aeradores de linha. Todo equipamento que entrar em contato com o mosto deve estar sanitizado;

- **Inoculação das leveduras/oxigenação do mosto:** Pode-se oxigenar o mosto, dependendo da concentração inicial de açúcares fermentescíveis (maiores concentrações) e da cepa de levedura. Para tanto, utilizam-se difusores de inox e oxigênio (gás – cilindro) quando este processo se faz necessário. Recomenda-se reidratar as leveduras liofilizadas (secas) ou usar a levedura líquida ou reaproveitada (lama do fermentador tratada). Pode-se propagar as leveduras por meio da preparação de um *starter* (mini-fermentação controlada para aumento no número de células viáveis de levedura). Deve-se planejar a taxa de inoculação (células/volume/°P), considerando-se a quantidade de açúcares fermentescíveis, o volume e o estilo de cerveja;
- **Fermentação:** Fermenta-se o mosto pela ação das leveduras cervejeira (geralmente por fermentação etanólica) e outros microrganismos (de acordo com o estilo), resultando na produção da cerveja verde (sem maturar e não carbonatada). Destacam-se a produção de etanol e de demais compostos que impactarão no sabor da bebida. Uma das formas de se saber que a fermentação se encerrou é quantificando-se a gravidade específica, uma vez que a manutenção dos valores em dias consecutivos pode indicar a parada no consumo dos açúcares fermentescíveis (a partir da diferença entre as gravidades específicas original e final, calcula-se a atenuação aparente – em percentual);
- **¿Reinoculação de leveduras/ reoxigenação?** Reinoculam-se as leveduras, com nova oxigenação, em casos de cerveja de alta gravidade ou estilos específicos. Para grande parte das cervejas esta fase é desnecessária;
- **¿Descanso de diacetil?:** Após a primeira etapa da fermentação, pode-se subir levemente a temperatura do tanque (aproximadamente 2 °C), para que as próprias leveduras reabsorvam o diacetil produzido, um *off-flavor* indesejado para maior parte dos estilos, melhorando o perfil sensorial da bebida. Esta etapa também é chamada de guarda quente;
- **¿Transferência de tanque/maturador?:** Pode-se transferir (trasfega) o mosto para um novo tanque/fermentador ou mesmo purgar (eliminar) as leveduras e demais compostos decantados ao fim da fermentação (lama cervejeira). Em casos de tanques de grande volume, a manutenção da lama no tanque propiciará a autólise das leveduras e a produção de sabores/odores/aromas indesejados. Para fermentadores pequenos, como baldes ou pequenos fermentadores, esse efeito é pouco observado;
- **Maturação/¿Lupulagem?:** Reduz-se a temperatura em cerca de 8 a 10 °C, alterando-se o metabolismo dos microrganismos, visando aprimorar o perfil sensorial da bebida, além de auxiliar na sedimentação das leveduras (também chamada de fermentação secundária). Durante a maturação, poderá ocorrer a

adição de lúpulo, por exemplo, com a inserção dos *pellets* de lúpulo no mosto fermentado (*dry hop*) ou mesmo dos cones florais secos (*wet hop*). Ao fim da maturação, pode-se reduzir a temperatura entre 1 e -1 °C para se sedimentar mais as leveduras e outros compostos e clarificar mais a bebida (*cold crash*). Há possibilidade do uso de aditivos para clarificação nesta fase;

- **Condicionamento:** Esta fase pode ocorrer após a maturação ou mesmo se mesclar com a maturação, podendo ocorrer na própria garrafa, barril de madeira etc. Tem como objetivo o aprimoramento dos gostos, odores, aromas e demais percepções sensoriais;
- **Filtração:** Pode-se filtrar a cerveja para deixá-la mais límpida/brilhante, dependendo do estilo e do processo, Há estilos em que a não filtração também faz parte do processo;
- **Carbonatação:** Pode-se carbonatar a cerveja nos próprios tanques de maturação (se pressurizáveis), com inserção de gás carbônico por meio de difusores (carbonatação forçada). A carbonatação forçada também pode ocorrer em barris. A forma caseira/artesanal de se carbonatar consiste na adição de alguma fonte de açúcar fermentescível (*priming*) para que a própria fermentação na garrafa gere o gás carbônico necessário;
- **Envase:** Pode-se envasar de forma automatizada (grande escala), semi-automatizada ou manual, utilizando-se de garrafas (âmbar – preferencialmente – ou outras cores), latas, recipientes de PET, barris etc;
- **¿Pasteurização?:** Pode-se pasteurizar após o envase, usando-se distintas técnicas de pasteurização. Tem como principal objetivo a redução dos microrganismos e o aumento do tempo de prateleira da bebida. O processo pode ocorrer com a cerveja em garrafa, lata, barril etc. Os cervejeiros caseiros, geralmente, não pasteurizam suas produções. Destaca-se que, no Brasil, permite-se o uso do termo “chopp” ou “chope” apenas para a cerveja não pasteurizada;
- **Armazenamento e transporte:** Deve-se considerar o tipo de envase (garrafa, lata, PET, barril etc.) e se houve ou não pasteurização. Por exemplo, barris com cerveja não pasteurizada devem ser armazenados em câmara fria. Além disso, deve-se evitar o armazenamento em locais quentes, assim como com luz direta, principalmente para as garrafas;
- **Serviço¿Lupulagem?:** Podem-se utilizar distintos copos e modos de servir, de acordo com o envase e o estilo da cerveja. Por exemplo, ao servir cervejas de trigo alemãs (*Weissbier*), serve-se a maior parte da garrafa e agita-se levemente uma pequena parte para servir ao final e se ter um creme (espuma) mais denso/incorporado. Outro exemplo, cervejas de estilos inglesas costumam ser servidas com pouco creme (espuma). Destaca-se que também é possível lupular a

cerveja no ato do serviço, com o uso de filtros de passagem com lúpulo (*Randall*) entre o barril e a chopeira.

Durante todas etapas de produção, há diversos fatores que interferem na qualidade e no perfil sensorial da cerveja, destacando-se:

- **Qualidade dos insumos:** cereais (maltados e não), lúpulos, adjuntos etc.;
- **Qualidade/ característica da água:** pureza, pH, concentrações de sais, dureza, etc.;
- **Qualidade no controle do processo:** controle do tempo, padronização dos processos, equipamentos etc.;
- **Controle de temperatura:** durante a mosturação, fermentação; maturação, envase e armazenamento;
- **Mensuração adequada em todas etapas:** uso de equipamentos e procedimentos adequados em cada etapa;
- **Detalhamento do processo/ receita:** detalhar todos insumos, quantidades, etapas de produção, adequando-se a receita ao equipamento existente (manutenção do padrão entre os lotes);
- **Problemas nos equipamentos:** falhas nos controladores, sistemas automatizados, vazamentos etc.;
- **Contaminação biológica:** prévia ao processo, por exemplo, na estocagem do malte, durante o processo (menos provável) e, principalmente, durante cada etapa da fase fria (maior probabilidade).

Todos esses fatores devem fazer parte do planejamento da produção, para evitar ou minimizar os riscos e garantir, com maior probabilidade, um produto com qualidade, sendo que os conhecimentos científicos são de extrema importância para isso. Ressalta-se que o controle de qualidade do produto final deve ser sistemático e rigoroso, para garantir uma boa cerveja ao consumidor.



Facilitando o entendimento

- 1) Saiba um pouco mais sobre as etapas de produção de cerveja no trabalho "Processo de Produção de Cerveja" (JÚNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009): http://ojs.rpqsenai.org.br/index.php/rpq_n1/article/view/35.
- 2) Acesse também o vídeo com o processo animado: https://www.youtube.com/watch?v=_OdSDQ1sTCA.
- 3) Conheça os materiais do projeto Cerveja com Ciência: <https://www.unifal-mg.edu.br/lme/cervejacomciencia/materiais>

2 Principais insumos

Ao longo da história da produção de cerveja, utilizaram-se diversos insumos em sua produção, tendo como base o uso de cereais (malteados ou não), água, sob ação de microrganismos (principalmente leveduras). Ressaltando que o descobrimento dos microrganismos no processo de fermentação é relativamente recente na história da cerveja. Tem-se conhecimento do uso de misturas de ervas aromáticas na cerveja (*Gruit*) durante a idade média, sendo que o uso do lúpulo é mais recente, com maior difusão entre os séculos XI e XII, devido suas características sensoriais e de conservação da cerveja.

Destaca-se na história da cerveja a lei da pureza da cerveja alemã (*Reinheitsgebot*), criada por Guilherme IV da Baviera em 23 de abril de 1516. Esta determinava que os ingredientes das cervejas deveriam ser água, malte de cevada e lúpulo (há diversas questões históricas, políticas e econômicas em torno da *Reinheitsgebot*). Posteriormente ao descobrimento dos microrganismos, introduziram-se as leveduras na lei da pureza da cerveja alemã.

Ressalta-se que há escolas cervejeiras, como a Belga, na qual se incluem o uso de diversos adjuntos, como açúcar caramelizado (*candy sugar*), além de especiarias etc. Dessa forma, a *Reinheitsgebot* não deve ser a única forma de se pensar cervejas de qualidade, sendo importante ter a mente aberta para as possibilidades de produção, desde que mantidos os controles de qualidade da bebida.

No Brasil, a legislação estabelece que:

Art. 2º Conforme definido no art. 36, do Decreto nº 6.871, de 2009, cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro. (BRASIL, 2019)

Ou seja, sinteticamente, são insumos base da produção: cevada malteada ou não (incluindo extrato de malte), lúpulo (peletizado, em flor etc.), leveduras cervejeiras (há uma grande variedade) e água. São autorizados ingredientes opcionais que podem conferir sabores e outras características à bebida (BRASIL, 2019):

Art. 6º Adjuntos cervejeiros são as matérias-primas que substituam, em até 45% em peso em relação ao extrato primitivo, o malte ou o extrato de malte na elaboração do mosto cervejeiro.

§ 1º Consideram-se adjuntos cervejeiros a cevada cervejeira não malteada e os demais cereais malteados ou não-malteados aptos para o consumo humano como alimento.

§ 2º Também são considerados adjuntos cervejeiros o mel e os ingredientes de origem vegetal, fontes de amido e de açúcares, aptos para o consumo humano como alimento.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

§ 3º A quantidade máxima empregada dos adjuntos cervejeiros definidos no § 2º, em seu conjunto, deve ser menor ou igual a 25% em peso em relação ao extrato primitivo.

Art. 14. São ingredientes opcionais da cerveja::

I - adjuntos cervejeiros, conforme definição do art. 6º;

II - ingredientes de origem animal, vegetal ou outros ingredientes aptos para o consumo humano como alimento, obedecidos os respectivos regulamentos técnicos específicos.

III - levedura e outros microrganismos fermentativos utilizados para modificar e conferir as características típicas próprias da cerveja, desde que garantida sua inocuidade à saúde humana.

Os adjuntos cervejeiros são considerados insumos importantes, uma vez que entre estes estão outros cereais malteados ou não (ex.: trigo, centeio, arroz, aveia etc.), além da própria cevada não malteada. Há diversos estilos de cerveja que, classicamente, usam algum desses adjuntos, como os estilos de cerveja de trigo (alemã – *Weissbier*, belga – *Witbier*) e o estilo *Oatmeal stout* com aveia (cerveja escura).

Por fim, tem-se também como insumos os aditivos e coadjuvantes de tecnologia de fabricação, que podem ser usados com objetivos específicos e autorizados por normas específicas da Anvisa. Incluem-se, por exemplo, os aditivos estabilizantes, antioxidantes e antiespumantes e os coadjuvantes de tecnologia de fabricação clarificantes.

2.1 Água

A água compõe grande percentual da cerveja, sendo que suas características físico-químicas e pureza são de extrema importância para a produção, impactando nas ações das enzimas da mostura, na sedimentação após a fermentação, nos sabores, na eficiência da mosturação e na qualidade como um todo.

Durante o processo, a água utilizada como insumo pode ser nomeada (ou definida) como água primária e secundária, sendo caracterizada por:

- **Água primária:** total de água cervejeira usada na mosturação, considerando-se as perdas nessa etapa, sendo os maltes moídos arriados nesta. Considera-se a razão de água:malte, 2,7 – 4 litros por quilograma de malte (Tabela 1), para que se tenha adequada atividade enzimática e fluidez do mosto durante a circulação;
- **Água secundária:** total de água cervejeira usada na etapa de lavagem do malte, após o *mash-out* da mosturação. O volume dependerá da escolha da razão de água:malte para água primária, objetivando-se chegar na gravidade específica alvo para fase de fervura.

Observa-se na Tabela 1 o impacto da razão de água por massa de malte, sendo os melhores rendimentos, visando a fermentabilidade do mosto, na proporção de 4,0 L/kg de malte. Como nem sempre é possível usar essa razão, por aspectos relacionados ao

tamanho da tina de mosturação, pode-se trabalhar com valores menores de água primária, aumentando-se a água secundária na lavagem.

Tabela 1 – Influência da concentração da mosto em diferentes mosturas em 60 °C, com duração de 180 min

Concentração da mostura / água(L):malte(kg)	2:1	2,7:1	4,0:1	5,3:1
Extrato (% extrato seco)	71,7	77,0	80,0	79,9
Extrato fermentescível (% extrato seco)	52,3	56,3	58,5	57,8
Extrato fermentescível (% extrato total)	72,9	73,1	73,1	72,3

Fonte: Traduzido e adaptado de Briggs *et al*, 2014.

Com relação à qualidade da água, os principais fatores observados na água cervejeira são:

- **Pureza:** a água deve ser isenta de compostos tóxicos, de contaminantes biológicos, físicos ou químicos, devendo seguir os limites estabelecidos por lei para diversos compostos químicos. Para muitos dos casos, recomenda-se o tratamento da água, seja por métodos de filtração (particulados e carvão ativo) ou por outro método adequado para cada realidade);
- **pH da água:** o pH da água deve estar dentro de faixas estabelecidas para cada produção, sendo que águas muito ácidas ou alcalinas poderão ter seu pH padronizado antes de seu uso. Ressalta-se a importância do controle do pH da mostura, pois este impactará diretamente na atividade das enzimas (geralmente entre 5,2 e 5,4). Além disso, caso haja a etapa de lavagem dos grãos do malte na brassagem, deve-se controlar o pH desta também, mantendo-se próximo do pH da mostura, de tal forma que o pH final do mosto fique adequado para atividade das leveduras cervejeiras;
- **Dureza total da água:** corresponde ao total de sais dissolvidos, principalmente de cálcio e magnésio, podendo-se considerar outros como carbonato, sódio, cloreto, sulfato etc. (total da dureza temporária e dureza permanente). Considera-se que, no geral, a água para cervejas claras deve ter cerca de 50 ppm de dureza total e cervejas escuras entre 150 e 300 ppm. Destaca-se que a estabilidade e, conseqüentemente, a atividade da α -amilase na mosturação é beneficiada com a presença do cálcio na água;

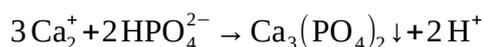
- **Concentração de Sais dissolvidos:** a concentração de cada sal na água impactará na atividade de diversas enzimas, assim como no sabor da bebida, como na percepção do amargor do lúpulo, do dulçor etc. Os principais íons controlados na água cervejeira são: carbonato, cálcio, sódio, cloreto, sulfato e magnésio. Dessa forma, deve-se avaliar e manter um padrão no perfil de sais para cada estilo produzido. Há alguns perfis de sais para água cervejeiras famosos para alguns estilos, como a água de Londres (maior concentração de carbonatos e menor de sulfatos – indicada para cervejas mais doces) e água de Dortmund (maiores concentrações de carbonatos e sulfatos – ressaltam o amargor da cerveja);
- **Relação malte x água na mosturação:** influencia na eficiência da mosturação (quantidade de açúcares fermentescíveis). Mosturas com pouca água (ex: 1 kg para cada 2 L ou menos) resultam em: dificuldade de bombeamento/circulação da mostura; redução da sacarificação; redução no extrato fermentável; aumento de compostos nitrogenados remanescentes no mosto. Recomenda-se a relação 1 kg: 2,5 L a 1 kg:4,0 L (adequar ao ao estilo e equipamento).

Quadro 1 – Classificação geral da dureza da água e uso cervejeiro

Classificação	Concentração CaCO ₃ (ppm – mg/L)	Uso
Mole	0 – 50	Recomenda-se cerca de 50 ppm para cervejas claras, variando um pouco acima ou abaixo de acordo com o estilo.
Moderadamente dura	51 – 150	Recomenda-se 50 ppm ou pouco mais para cervejas claras e em torno de 150 para cervejas escuras.
Dura	151 – 300	Recomenda-se cerca de 150 ppm para cervejas escuras, podendo variar.
Muito dura	> 300	Geralmente não recomendado para produção, entretanto, pode haver excessões.

Fonte: A partir de Brasil, 2006 e Daniels, 2000.

Destaca-se que, quando a água é adicionada aos grãos de malte moído para início da mosturação, tem-se a reação dos fosfatos presentes nos maltes com o cálcio presente na água e a consequente liberação de H⁺ no meio:



Esses prótons podem reagir com os carbonatos presentes na água (como carbonato de cálcio), formando-se sistemas tampão na mostura, ou seja, sistemas químicos (ácidos fracos e bases conjugadas) que evitam alterações bruscas do pH, recebendo ou doando prótons no meio. Desta forma, enquanto houver capacidade tamponante no meio, o pH da mostura se alterará com maior dificuldade. Há diversas outras reações químicas que ocorrem não indicadas aqui.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Com relação aos sais na água, esse é um fator que se destaca, uma vez que as concentrações dos sais influenciarão no sabor da cerveja, assim como na atividade enzimática, como é o caso do cálcio que pode interagir com as amilases, melhorando sua atividade.

O cervejeiro poderá, de acordo com os interesses específicos e a partir da análise química de sua água, alterar um ou mais sais, para se atingir as concentrações para os objetivos desejados ou mesmo usar um perfil de água. Com isso tem-se a água cervejeira, a qual passou por processos, seja de tratamento ou de adição de sais, para uso no processo.

Existem alguns estilos clássicos que podem ser utilizados como referência, estes estão indicados no Quadro 2.

Quadro 2 – Síntese dos principais perfis de água cervejeira

Perfil	Características	Uso
Burton	Cálcio (268 ppm); Magnésio (62 ppm); Sódio/Na ⁺ (30 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (638 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (36 ppm) e Carbonatos/CO ₃ ⁻² (141 ppm)	Estilos com maior quantidade de lúpulo, pois resalta o amargor. Indicado para estilos de <i>India Pale Ales</i> .
Dortmund	Cálcio (237 ppm); Magnésio (26 ppm); Sulfatos/ SO ₄ ⁻² (318 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (53 ppm) e Bicarbonato/HCO ₃ ⁻ (174 ppm)	Acentua o amargor e ressaltam o sabor da bebida. Indicado para <i>Export lagers</i> .
Dublin	Cálcio (118 ppm); Magnésio (4 ppm); Sódio/Na ⁺ (12 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (54 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (19 ppm) e Bicarbonato/HCO ₃ ⁻ (319 ppm).	Indicado a estilos mais secos como <i>Dry stout</i> .
Edinburgh	Cálcio (125 ppm); Magnésio (25 ppm); Sódio/Na ⁺ (55 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (140 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (65 ppm) e Bicarbonato/HCO ₃ ⁻ (225 ppm)	Indicado para estilos como <i>Scottish ale</i> .
Londres	Cálcio (90 ppm); Magnésio (4 ppm); Sódio/Na ⁺ (24 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (58 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ 1 (18 ppm) e Carbonatos/CO ₃ ⁻² (123 ppm)	Indicado a estilos mais doces e imperiais, como <i>British bitter, Sweet stout</i> .
Melbourne	Cálcio (1,3 ppm); Magnésio (0,8 ppm); Sódio/Na ⁺ (4,5 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (0,9 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (6,5 ppm) e Carbonatos/CO ₃ ⁻² (3,6 ppm)	Água muito mole, indicada para <i>Pale ale, Vienna lager e Lagers</i> suaves
Munique	Cálcio (80 ppm); Magnésio (19 ppm); Sódio/Na ⁺ (1 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (5 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (1 ppm) e Carbonatos/CO ₃ ⁻² (164 ppm)	Indicado para estilos como <i>Oktoberfest</i> .
Pilsen	Cálcio (7,1 ppm); Magnésio (3,4 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (4,8 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (5 ppm) e Bicarbonato/HCO ₃ ⁻ (14 ppm)	Água muito mole, indicado para estilos como <i>Pilsen</i> .
Viena	Cálcio (163 ppm); Magnésio (68 ppm); Sulfatos/SO ₄ ⁻² (216 ppm); Cloretos/Cl ⁻¹ (39 ppm) e Bicarbonato/HCO ₃ ⁻ (243 ppm)	Indicado a estilos como: <i>Vienna lager</i> .

Fonte: A partir de Daniels, 2000.

2.2 Malte de cevada

O termo malte é usado comumente para se referir a um dos principais insumos da cerveja, sendo que geralmente se refere ao malte de cevada (grande parte dos casos), um dos principais insumos usados na produção.

Define-se como malte todo grão de cereal que foi malteado, ou seja, passou por um complexo processo que envolve a germinação controlada do grão, secagem e diversos tratamentos para constituição dos maltes base e especiais, que podem envolver a caramelização, defumação e/ou torra dos grãos.

Para ser considerado cerveja no Brasil, a bebida deve ser “[...] elaborada a partir de um mosto cujo extrato primitivo contém no mínimo 55% em peso de cevada malteada e no máximo 45% de adjuntos cervejeiros” (BRASIL, 2019).

A cevada (*Hordeum vulgare*) é uma planta gramínea que pertence à Família Poaceae, Subfamília Pooideae, com origem na Mesopotâmia, com grande produção na Ásia, Europa e América do Norte. Sua maior introdução no Brasil se deu entre 1920 e 1930, sendo o estado do Paraná a maior região produtora no Brasil atualmente:

- Reino: Plantae;
- Superdivisão: Spermatophyta;
- Divisão: Magnoliophyta;
- Classe: Liliopsida;
- Ordem: Poales;
- Família: Poaceae;
- Gênero: *Poaceae*;
- Espécie: *P. Vulgare*.

A escolha da cevada como principal cereal para a produção cervejeira se deve, para além dos motivos históricos, por sua grande quantidade de carboidratos, principalmente amidos, os quais podem ser convertidos durante a mosturação em açúcares fermentescíveis pelas próprias enzimas presentes no grão malteado.

A cevada apresenta diversos cultivares produzidos pelo homem, cada um com características próprias, sendo as cevadas para fins cervejeiro distinta de outros cultivares com fins, por exemplo, de alimentação animal. Ao se desenvolver um cultivar, busca-se obter maior homogeneidade, estabilidade e produtividade, além de resistências às pragas.

A planta da cevada apresenta, geralmente, até 1 m de altura, com influência com aspecto quadrangular, sendo seus frutos cariopses (grãos) e podem ser classificadas como forrageiras ou cervejeiras, de verão ou de inverno (época de semeadura), de duas

ou seis fileiras (posicionamento das cariopses na inflorescência), sendo as de duas fileiras de haste ereta ou curva.

Comparando as cevadas de duas e seis fileiras, tem-se nas cevadas de duas fileiras a malteação facilitada, menor teor de casca, maior concentração de amido, menor de proteínas e enzimas, sendo a mais utilizada no contexto cervejeiro. Enquanto as cevadas com seis fileiras apresentam mais cascas, menor concentração de amido e maior de proteínas/enzimas (maior poder diastático – capacidade de hidrolisar os amidos), sendo seu uso indicado em produções com insumos de baixo poder diastático (como milho e arroz).

Destaca-se que grande parte dos cultivares plantados do Brasil (mais de 90%), são resultados de pesquisa nacional (Quadro 3), destacando as variedades BRS da Embrapa. Por exemplo, em 2013 a Embrapa lançou a variedade BRS Itanema, viabilizando o plantio com boa produtividade nos estados de São Paulo, Goiás, Minas Gerais e Distrito Federal (há diversas variedades desenvolvidas pela EMBRAPA, com características distintas, adaptadas para plantio em diversas regiões do Brasil).

Quadro 3 – Cultivares de cevada cervejeira desenvolvidos pela EMBRAPA

Cultivar	Ano	Características
BRS Sampa	2008	Duas fileiras, grãos classe 1, porte anão (média 77 cm), rendimento médio de 6,5 ton/ha. Plantio indicado nos estados: São Paulo e Goiás (primeira semana de maio).
BRS Cauê	2008	Duas fileiras, grãos classe 1, porte anão (média 75 cm), rendimento maior que 5 ton/ha. Plantio indicado nos estados: Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.
BRS Brau	2009	Duas fileiras, grãos classe 1, porte anão (média 76 cm), rendimento médio de 6 ton/ha. Plantio indicado nos estados: Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.
BRS Manduri	2011	Duas fileiras, grãos classe 1, porte anão (até 80 cm), rendimento médio 6,5 ton/ha. Plantio indicado nos estados: São Paulo (irrigado), Minas Gerais, Goiás e Distrito Federal (plantio na primeira semana de maio).
BRS Itanema	2013	Duas fileiras, grãos classe 1, porte médio (média 90 cm), rendimento até 7 ton/ha. Plantio indicado em regiões irrigadas do estado de São Paulo (altitude de 600 m) e também em Goiás, Minas Gerais e Distrito Federal.
BRS Quaranta	2015	Duas fileiras, grãos classe 1, porte baixo (média 78 cm), rendimento superior a 6 ton/ha. Tem resistência às pragas, como oídio, e moderada à mancha reticular. Plantio indicado para regiões acima de 700 m de altitude (preferencialmente em junho) e no Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná.
BRS Kalibre	2017	Duas fileiras, grãos classe 1, porte médio (média 90 cm), rendimento até 7 ton/ha. Apresenta grãos graúdos, com casca fina. Plantio indicado em regiões irrigadas do estado de São Paulo.

Fonte: Website da Embrapa: <https://www.embrapa.br>.

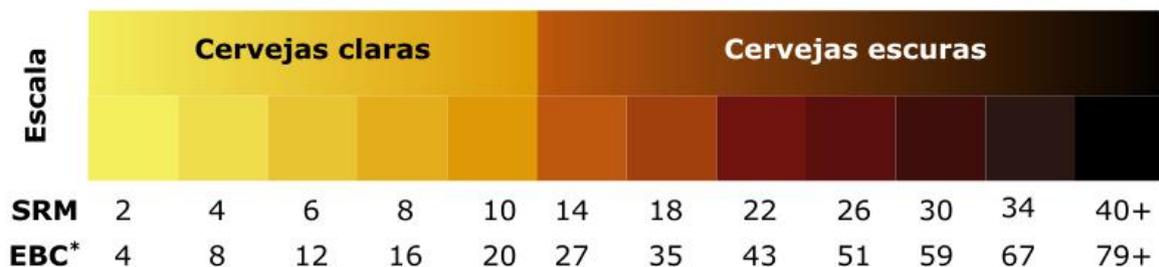
Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

A malteação da cevada tem extrema importância bioquímica, pois contribuirá na ativação e formação de enzimas, na modificação do endosperma (carboidratos, lipídios, proteínas etc.), na formação de aromas e sabores e na cor da cevada. As mudanças geradas durante a germinação possibilitam “melhores” substratos e enzimas para a mosturação, sendo que as receitas deverão considerar o grau de modificação do grão durante suas elaborações.

Sinteticamente, a malteação segue o fluxo geral: classificação, maceração (limpeza e hidratação), germinação, secagem, torrefação, resfriamento, desbrotamento, armazenamento, polimento, expedição. Quanto maior a temperatura de secagem e/ou tosta (nem todos são tostados), menor a atividade enzimática, ou seja, o poder diastásico. Destaca-se que, nos maltes tostados, devido a desnaturação das enzimas, não há enzimas funcionais, desta forma o poder diastático é zero.

A cor do malte (Figura 2), assim como da cerveja, pode ser indicada por escalas, sendo as mais comuns: SRM (*Standard Reference Method*)¹ e EBC² (*European Brewery Convention*). O SRM pode ser obtido por meio de espectrofotômetro³ de luz visível (leitura em comprimento de onda $\lambda = 430 \text{ nm}$). No geral, tem-se as cervejas claras com até 20 EBC e as escuras acima de 20 EBC.

Figura 2 – Escala de cor usada na caracterização de maltes de cervejas



*Valores de conversão para EBC aproximados.

Nota: O SRM é calculado³ a partir da absorvância de luz em 430 nm

Fonte: O autor.

Os maltes produzidos (exemplificados na Figura 3) podem ser classificados em maltes base e especiais, sendo que estes se diferem nas cores e sabores originados no processo de malteação ou por processos posteriores à malteação, como para defumar ou tostar o malte. Destaca-se que os maltes também recebem a classificação da cor (SRM ou EBC), correspondendo a cor gerada por sua adição na mostura, dessa forma, viabilizando os cálculos cervejeiros para produção das receitas, buscando-se alcançar a cor alvo para o estilo desejado.

1 $Cor_{SRM} = Cor_{EBC} / 1,97$

2 $Cor_{EBC} = 1,97 \times Cor_{SRM}$

3 Cubeta de 1 cm: $SRM = 12,7 \times Diluição \times Absorvância_{430nm}$.

Figura 3 – Sequência para ilustrar alguns maltes por coloração



Fonte: O autor.

Sinteticamente se tem os maltes:

- **Maltes base:** apresentam alto poder enzimático para degradação do amido (maior poder diastático), podendo ser usados na proporção de até 100% do malte nas receitas. São secos em baixas temperaturas na malteação. Geralmente apresentam coloração mais clara e odores e gostos mais sutis. Exemplos de maltes: Pilsner (cevada), Pale (cevada), Trigo claro;
- **Maltes especiais:** proporcionam cor, odores, gostos, sabores e corpo à cerveja, de acordo com o tratamento recebido durante a malteação. Recebem tratamento térmico, o que resulta na ocorrência da reação de Maillard e na caramelização, resultando em uma grande variedade de sabores, do caramelo ao café/tostado. Destaca-se que o corpo é resultado do conjunto de açúcares não fermentescíveis, proteínas e outros compostos. Quanto maior a temperatura de secagem ou de tosta, menor o poder diastático, uma vez que as enzimas do grão são desnaturadas em temperaturas elevadas. Há uma grande variedade, incluindo maltes defumados, cara (caramelizados), tostados ácidos/acidificados etc. Exemplos: Maltes cara – Caraaroma, Cara Ruby, Cara gold; Maltes tostados – Malte Chocolate, Chateau Black, Carafa (I, II e III).

Os maltes base ou especiais poderão ser usados na produção como:

- Grãos (produções somente grãos – *all-grain* ou mistas);
- Extrato de malte seco (DME – *Dry Malt Extract*): em pó, pode ser usado na ativação de leveduras, correção da gravidade final do mosto ou para carbonatação natural (*priming*);
- Extrato de malte líquido: altamente viscoso, pode ser usado na ativação de leveduras, correção da gravidade final do mosto ou para carbonatação natural (*priming*).

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

O malte deve apresentar diversas características para ser utilizado na produção cervejeira, como: friabilidade e homogeneidade adequada para moagem; quantidade adequada de carboidratos passíveis de serem convertidos em carboidratos fermentescíveis; contribuir com as qualidades sensoriais da bebida (cor, odor, aroma, gostos e corpo); contribuir com a estabilidade coloidal e na formação de espuma.

Além das características sensoriais dos maltes, deve-se destacar sua composição, sendo em grande parte constituído por amido (amilose + amilopectina), proteínas e enzimas, lipídios e diversos outros compostos de importância para a produção da bebida, destacando o ácido ferúlico (ácido 3-metoxi-4-hidroxi cinâmico), presente nas células vegetais, principalmente, na cevada e, com destaque, no trigo.

O ácido ferúlico é usado pelas leveduras como precursor do 4-vinil-guaiacol (aroma de cravo), sendo importante em alguns estilos, como na *Weissbier* (cerveja de trigo alemã) e *witbier* (cerveja de trigo belga).

Dentre as proteínas presentes nos maltes, ressalta-se a presença do glúten, uma rede de proteínas insolúvel, em diversos dos cereais usados na fabricação de cerveja, como a cevada e o trigo (há cereais que não apresentam glúten, como o arroz e milho).

O glúten é composto por duas frações proteicas (prolamina e glutelina), sendo que as prolaminas e glutelinas variam de acordo com o grão (Quadro 4), por exemplo: hordeína na cevada; gliadina no trigo; secalina no centeio.

Quadro 4 – Frações de prolamina e glutelina do glúten, presentes em alguns cereais

Cereal	Prolamina	Glutelina
Aveia	Avenina	Avenalina
Centeio	Secalina	Secalinina
Cevada	Hordeína	Hordenina
Trigo	Gliadina	Glutenina

Fonte: A partir de Pellitero (2014).

Durante o processo de mosturação, mesmo com adição de parada proteica, para ação das enzimas proteolíticas, ainda restará uma concentração significativa de glúten na cerveja.

Não se recomenda a ingestão de bebidas com glúten, como cervejas que não sejam sem glúten ou com glúten reduzido, por pessoas com doença celíaca ou dermatite herpetiforme (doença de Duhring), uma vez que a ingestão do glúten representa um risco para a saúde desses indivíduos.

Nesse sentido, muitas cervejarias estão investindo na produção de cervejas livre de glúten – glúten *free* – (segundo o *Codex Alimentarius*, menos que 20 ppm), ou glúten reduzido, a partir do uso de prolil-enzimas (ou prolina-específicas), como a *Brewers*

Clarex™, além de outras técnicas para remoção do glúten.

Com relação às características dos maltes para avaliação de sua qualidade, há diversas variáveis que são indicadas, destacando-se o poder diastático, a friabilidade, Índice de Kolbach/KZ e o Índice de Hartong:

- Poder diastático: principal medida para a somatória da atividade das enzimas amilolíticas, capazes de degradar o amido. Quanto maior o poder diastático, maior a capacidade de degradar os carboidratos complexos em simples. Quanto mais tostados os maltes, menor o poder diastático decorrente da desnaturação das enzimas (ver 6 Poder diastático);
- Friabilidade: Indica o grau de modificação e a facilidade que os grãos têm de se partirem, reduzindo-se a fragmentos, podendo ser medido por meio de friabilômetro. Quanto menor a friabilidade, pior será a exposição do conteúdo dos grãos e, conseqüentemente, menor o rendimento da brassagem. Considera-se uma alta friabilidade os valores acima de 87%, sendo que os maltes base devem apresentar 80% pelo menos. Nem sempre este parâmetro se correlaciona com o desempenho do mesmo na produção cervejeira;
- Índice de Kolbach/KZ: Corresponde a razão entre o percentual de nitrogênio solúvel e o percentual de nitrogênio total, permitindo-se inferir o grau de modificação do malte (29 a 45%): $\geq 45\%$ degradação excessiva; > 41 e $< 45\%$, boa degradação; ≥ 35 e $\leq 41\%$, média degradação; $< 35\%$, degradação insuficiente;
- Índice Hartong/VZ: Os valores possibilitam inferir a atividade enzimática e a solubilização das proteínas. A obtenção dos valores se dá a partir de mosturação em diferentes temperaturas (20, 45, 65 e 80 °C). VZ-20°C: molhamento e qualidade da cevada; VZ-45°C: ações das enzimas (exceto α -amilases), verificando-se solubilidade dos aminoácidos e concentração de açúcares fermentescíveis; VC-65°C: qualidade da cevada e dissolução citolítica; VC-80°C: qualidade da mosturação, fervura e clarificação. O mais comum é o uso do VZ-45°C (abaixo de 30%: ruim; 30 a 36% suficiente; 36 – 40% satisfatório; maior que 40% bom). Por exemplo, os maltes pilsen devem ter, pelo menos, 38% para VZ-45°C, garantindo a qualidade enzimática.

2.3 Adjuntos

Os adjuntos cervejeiros são importantes insumos para produção cervejeira que visam contribuir como fonte de amidos e açúcares fermentescíveis ou para adição de alguma característica específica na cerveja (menor ou mais corpo, cremosidade na espuma etc.) incluindo a cevada não malteada, outros grãos de cereais aptos para o consumo humano (malteados ou não), assim como outras fontes de amido, açúcares de origem vegetal e o mel.

Os principais grãos de cereais utilizados (além da cevada) são da Família Poaceae:

- I **Subfamília:** Pooideae (mesma subfamília da cevada)
 - I.A **Trigo:** *Triticum aestivum* (geralmente malteado)
 - I.B **Centeio:** *Secale cereale* (geralmente malteado)
 - I.C **Aveia:** *Avena sativa* (raramente malteado)

- II **Subfamília:** Panicoideae
 - II.A Tribo: Maydeae
 - A.1 **Milho:** *Zea mays* (raramente malteado)
 - II.B Tribo: Andropogoneae
 - B.1 **Sorgo:** *Sorghum vulgare* (raramente malteado)
 - II.C **Milheto:** *Pennisetum glaucum*

- III **Subfamília:** Bambusoideae
 - III.A Tribo: Oryzea
 - A.1 **Arroz:** *Oryza spp* (raramente malteado)

Cada grão pode ser utilizado com objetivos diferentes, de acordo com as características de seus constituintes (amidos, proteínas etc.), destacando que cada tipo trará concentrações distintas de carboidratos e proteínas, por exemplo:

- Arroz e milho: apresenta alto percentual de amido e baixo de proteínas, aumentam a concentração dos açúcares fermentescíveis, sem alterar significativamente corpo da cerveja ou aromas/odores e sabores. Contribuem para produção de cervejas mais leves e límpida. Podem ser usados na produção de cerveja sem glúten. Comumente usados em estilos *Lagers* e *Light lagers*;
- Aveia: possui elevado teor de lipídios e proteínas, quando comparado aos demais grãos, e contribui para maior cremosidade da cerveja e retenção da espuma. Usados em estilos como *Oatmeal stout*;
- Centeio: contribui para maior cremosidade da cerveja (deve ser usado em baixas quantidades pela alteração no sabor, picância e cor (avermelhada). Pode ser usado malteado ou não, contribuindo com notas de mel e pão;
- Trigo: contribui com o aumento da cremosidade da bebida, além de maior concentração de ácido ferúlico (precursor do 4-vinil-guaiacol, responsável pelo aroma de cravo, típico em cervejas de trigo);

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

- Milheto: Pode ser usado na fabricação de cerveja sem glúten, apresentando menor concentração de carboidratos e maior de proteínas, quando comparado ao arroz, milho e sorgo.

Além dos grãos de cereais, há outros que vem sendo utilizados como adjuntos na cerveja, como os grãos do amaranto (*Amaranthus* spp.), os quais contribuem com sabores diferenciados (nozes etc.) e a Quinoa (*Chenopodium quinoa*), a qual contribui com diversos sabores e nutrientes para as leveduras. Ambos grãos são da mesma família (Amaranthaceae).

Além do uso dos grãos, tem-se o uso de outros adjuntos, como *Candy sugar*⁴ (açúcar-cândi) e *Candy syrup*⁵ (comum para alguns estilos da escola Belga), além de outras fontes vegetais de amido, como rapadura de cana, mandioca etc. Cada adjunto trará, para além do amido, outros compostos que poderão contribuir em algum elemento sensorial e/ou econômico da produção da cerveja.

4 Açúcar invertido cristalizado, usado para aumentar o teor alcoólico e propiciar novos sabores (ex. caramelo, frutado etc.). Pode ser encontrado em diferentes intensidades de cor.

5 Xarope – forma líquida – similar ao *Candy sugar*.

2.4 Lúpulo

O lúpulo é uma planta trepadeira (*Humulus lupulus*), da Ordem Rosales e da Família Cannabaceae, a partir da qual se aproveitam seus cones florais (estróbilos) para fabrico da cerveja:

- Reino: Plantae;
- Clado: Angiospérmicas;
- Clado: Eudicotiledóneas;
- Clado: Rosídeas;
- Ordem: Rosales;
- Família: Cannabaceae;
- Género: *Humulus*;
- Espécie: *H. lupulus*.

Seu uso na produção cervejeira está relacionado ao maior tempo de conservação dos produtos que o continham, sintetizando-se a seguir sua história:

- Citado na epopeia Finlandesa (Kalevala), anteriormente a 1000 a.C.;
- Mencionado pela primeira vez em 736 d.C em Geisenfeld (região de Hallertau – sul da Alemanha);
- Mencionado em 768 d.C (Mosteiro de St. Denis/ Paris) e 822 d.C (Mosteiro Corvey) e 859 – 875 d.C (Freising – Alemanha);
- Descrito em 1153 d.C pela abadessa Hildegard von Bingen em seu livro *Physica Sacra* por suas: atividades antissépticas: “*putredines prohibet in amaritudine sua*” (previne a podridão em sua amargura);
- Indicado como um dos ingredientes na lei de pureza alemã (*Reinheitsgebot*) em 1516, a qual determina como insumos da cerveja: água, malte de cevada e lúpulo;
- Uso iniciado na Inglaterra no início do século XVI;
- Cultivo nos EUA em 1629;
- Mantiqueira, a primeira variedade de lúpulo brasileira em 2011;
- Primeiro uso comercial do Mantiqueira pela Baden Baden em 2014;
- Criação da associação brasileira de produtores de Lúpulo (Aprolúpulo).

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Destaca-se que na produção cervejeira são utilizados os cones florais (femininos) do lúpulo, os quais contribuem com o amargor, gostos, odores, estabilidade da espuma etc., sendo este elemento obrigatório na produção (para se manter a nomenclatura de cerveja). Seu uso pode ocorrer em diversas etapas da produção (destacando a etapa da fervura e maturação) e com diversos métodos para se atingir as contribuições citadas, podendo estes serem utilizados secos, prensados (*pellets*), extrato, extrato isomerizado etc.

Os *pellets* podem ser encontrados como T45 e T90, sendo:

Pellet T45/Tipo 45: São *pellets* de lúpulo que apresentam cerca de 45% dos componentes não resinosos encontrados no cone/estróbilo, como celulose, proteínas etc. Durante sua produção, os alfa-ácidos e óleos são concentrados mecanicamente, retirando-se grande parte das fibras do estróbilo/cone, dessa forma, aumentando-se o teor de lupulina. (HORNINK, GALEMBECK, 2019, p. 148)

Pellet T90/Tipo 90: São *pellets* de lúpulo que apresentam cerca de 90% dos componentes não resinosos encontrados no cone/estróbilo, como celulose, proteínas etc. São produzidos pela prensa das flores processadas/moídas do lúpulo. A maior parte dos lúpulos é comercializada como *pellets* do tipo 90 (T90). (HORNINK, GALEMBECK, 2019, p. 148)

Conhecer a composição química dos cones dos lúpulos é muito importante para escolha da variedade adequada ao estilo e objetivos pretendidos, destacando-se os α -ácidos e os óleos essenciais presentes. Sinteticamente se tem a constituição:

- Água (8-10%);
- Proteínas (12-24%);
- Resinas totais (12-21%);
 - Resina mole (~16%):
 - α -ácidos (0 – 22%): humulonas (30 – 70%), cohumulonas (20 – 55%), adhumulonas (10 – 15%), prehumulonas (1 – 10%), posthumulona (1 – 5%);
 - β -ácidos (0 – 10%): lupulonas (30 – 55%), colupulonas (20 – 55%), adlupulona (5 – 10%), prelupulona (1 – 3%), postlupulona (?%);
 - Resina dura (~1%):
 - Polifenóis, lipídios, celulose etc.
- Taninos (2 – 6%);
- Celulose (40 – 50%);
- Cinzas (8 – 10%);
- Pectinas (~ 2 %);
- Lipídios e ceras – geral (até 5%);
- Óleos essenciais (0,5 – 4%) (ex. humulenos, mircenos, cariofilenos, farnesenos)

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Os α -ácidos são os principais responsáveis pela origem do amargor da cerveja, com destaque para a humulona e cohumulona, entretanto, são insolúveis na água e precisam ser isomerizados para tal efeito. Esta reação ocorre durante a fase de fervura (fase quente da produção), sendo que o tempo de cerca de 60 minutos é adequado para que esta reação ocorra de forma significativa (boa relação de custo/benefício), destacando que os β -ácidos são pouco solúveis e contribuem muito pouco para o amargor.

Dessa forma, o tempo de fervura interferirá na concentração de iso- α -ácidos e na percepção do amargor, sendo que, além desse fator, impactarão no amargor da cerveja: relação da quantidade de lúpulo por volume (α -ácidos); intensidade da fervura; gravidade específica do mosto.

Além disso, acredita-se que percentuais maiores de cohumulona contribuam para o amargor desagradável na boca, sensação ríspida na garganta, chamada de *hash*. Dessa forma, indicam-se lúpulos que tenham a razão percentual de humulona e cohumulona próxima ou maior que um.

A concentração de iso- α -ácidos pode ser dada a partir da unidade internacional de amargor (IBU – *International Bitterness Unit*), sendo que 1 IBU equivalente a 1 mg de iso- α -ácido por litro de cerveja. Entretanto, a percepção do sabor amargo terá influência pelos sais presentes (ex. sulfatos geram maior percepção do amargo), dos maltes utilizados, assim como pela gravidade específica original e atenuação aparente.

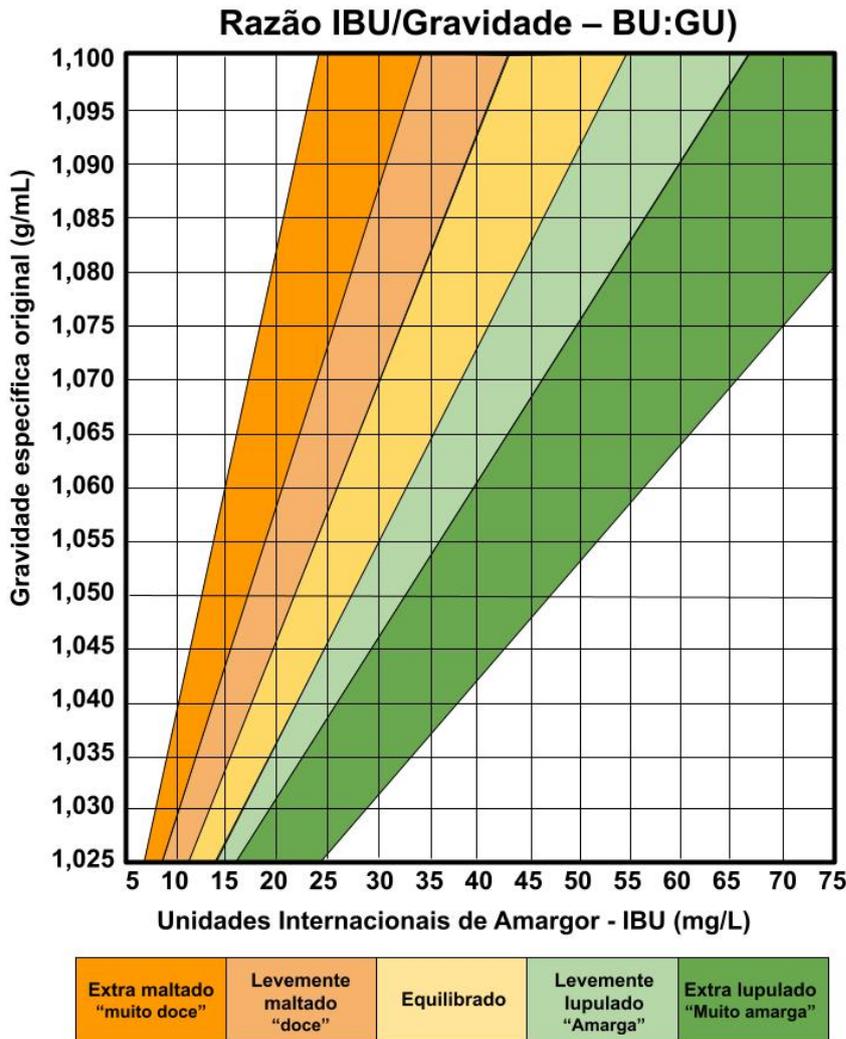
Uma vez que somente o IBU não é capaz de indicar a percepção que se pode ter sobre o amargor em uma cerveja, Ray Daniels propôs o uso da razão entre as unidades de amargor em IBU (BU: *Bitterness Unit*) e os pontos da gravidade específica original da cerveja (GU: *Gravity Unit*), também chamada de razão BU:GU (Figura 4).

A razão BU:GU possibilita, de um modo geral, compreender a percepção de amargor da cerveja, sendo que esta razão varia entre 0,2 e 1, indicando-se:

- ~ 0,2: mais maltadas/ doces;
- ~ 0,5: equilibradas;
- ~ 1: lupuladas/ mais amargas.

Dessa forma, duas cervejas que apresentassem 30 IBUs poderiam ter percepções muito diferentes entre si, de mais amarga à maltada, sendo que, cada estilo de cerveja terá razões BU:GU diferentes.

Figura 4 – Relação da razão BU:GU com a percepção do amargor



Fonte: Adaptado e traduzido de “El Jardin del Lúpulo, do desenho original de Ray Daniels.
<https://eljardindellupulo.blogspot.com/2017/02/sabias-que-escala-bugu-amargor-densidad.html>

Apesar da razão BU:GU trazer alguma ideia sobre a percepção do amargor, deve-se compreender que duas cervejas que tenham a mesma gravidade específica original poderão ter gravidades específicas finais diferentes, ou seja, diferem na atenuação aparente, decorrente das leveduras utilizadas (principalmente), dessa forma, as percepções de amargor também serão diferentes, apesar da razão BU:GU ser a mesma.

Buscando corrigir essa diferença, Ryan Shwayder propôs a correção da razão BU:GU utilizando-se como fator de ajuste o valor médio das atenuações aparentes dos estilos presentes no guia de cervejas BJCP (*Beer Judge Certification Program*). A partir desse valor médio propôs o índice de amargor relativo (IAR):

$$IAR = (BU : GU) \times (1 + AA - 0,7655)$$

Sendo:

BU:GU = razão das unidades de amargor, com as unidades de gravidade específica;

AA = atenuação aparente.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Ainda com relação ao IBU da cerveja, o mesmo pode ser estimado em uma receita a partir de cálculos, os quais consideram a massa e o percentual de α -ácidos, a gravidade específica e o tempo de fervura (percentual de utilização) e o volume da produção. Os cálculos mais utilizados são: método Tinseth e método Rager.

Fórmula pelo método de Tinseth:

$$IBU = \frac{Lúpulo(g) \times Utilização(\%) \times \alpha - ácidos \times 1000}{Volume\ cerveja(L)}$$

Sendo:

Lúpulo (g) = massa do lúpulo em gramas;

Utilização(%) = Fator correspondente entre a gravidade específica pelo tempo de fervura;

α -ácidos = Porcentagem de α -ácidos do lúpulo em decimais. Exemplo, se o lúpulo possui 12,5% de alfa-ácidos, você colocará 0,125.

Volume cerveja = Volume final de cerveja produzida em litros.

Uma vez que a cerveja esteja pronta, é possível a quantificação total dos iso- α -ácidos por espectrometria de luz UV (extração por iso-octano) ou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) A técnica por espectrometria é mais rápida e barata, mas com menor precisão, por outro lado, por meio da cromatografia é possível identificar e quantificar, isoladamente, cada iso-alfa-ácidos presente na cerveja.

Para além dos α -ácidos, destacam-se no lúpulo os óleos essenciais, os quais são importantes para os gostos, odores e aromas da cerveja, compondo o sabor da mesma. São constituídos fundamentalmente por terpenos (Quadro 5), sendo estes compostos químicos classificados de acordo com o número de resíduos de isopreno em sua constituição: monoterpenos têm dois resíduos (ex. de óleos essenciais – mircenos); sesquiterpenos têm três resíduos (ex. de óleos essenciais – farnesenos, humulenos, cariofilenos). Destaca-se que os lúpulos nobres tendem a apresentar maior proporção de humulenos em relação aos mircenos.

Quadro 5 – Principais terpenos presentes nos lúpulos

Óleo essencial	Composição	% total óleos	Evaporação	Contribuição
Mirceno	Monoterpeno alifático.	20 – 70%	~63,9 °C	Odores/aromas florais, cítricos e de pinus. Pode ocasionar a percepção ácida e áspera (desagradável na cerveja)
Humuleno	Sesquiterpeno cíclico	0,5 – 50 %	~99 °C	Odores/aromas herbais
Farneseno	Sesquiterpeno alifático	0,5 – 20%	~125 °C	Diversos odores/gostos.
Cariofileno	Sesquiterpeno cíclico	5 – 20%	~129 °C	Odores/aromas herbais, picância

Fonte: A partir de Daniels (2000).

Destaca-se que cada terpeno (Quadro 5) presente nos óleos essenciais têm temperaturas de evaporação diferentes, dessa forma, a temperatura e o tempo de fervura influenciarão a perda destes durante a fervura da mostura. Com isso, de acordo com os interesses de preservação dos óleos essenciais (gostos ou odores/aromas), tem-se a inserção dos lúpulos em tempos diferentes da fervura. Por exemplo: para se preservar os gostos, inserem-se os lúpulos nos 10 minutos finais da fervura; para se preservar os odores/aromas, insere-se entre 0 e 5 minutos do tempo final de fervura ou mesmo usar outra técnica de lupulagem posterior a fervura. Lembrando que, para o amargor, haverá necessidade de isomerização dos α -ácidos, o que demanda maior tempo de fervura (geralmente 60 minutos), dessa forma, pode-se combinar os lúpulos e momentos de inserção visando cada objetivo (amargor e demais elementos sensoriais).

Outra técnica utilizada para preservação dos odores/aromas é a técnica de *dry-hopping* (inserção dos *pellets* de lúpulo durante a maturação) ou outra técnica “a frio” que preserve os óleos essenciais mais voláteis.

De acordo com as características predominantes dos lúpulos, estes podem ser classificados como lúpulos de amargor, de aroma ou de uso misto (entre parênteses os percentuais de α -ácidos):

- Lúpulos de amargor: Chinook (12-14%), Hallertau Magnum (12-14%);
- Lúpulos de aroma: Cascade (4,5-6,5%), Hallertau Mittelfrüh (3-5,5%);
- Lúpulos de uso misto: Amarillo (8-11%), Centennial (9,5-11,5%).

Destaca-se que o tempo e o modo de armazenamento dos lúpulos impactarão em seu envelhecimento, impactando sobre o percentual de α -ácidos, assim como alterações nos odores que podem gerar *off-flavors* na cerveja (como o isovalérico).

Alguns fatores influenciam no envelhecimento: variedade do lúpulo; temperatura de armazenamento; embalagem (exposição à luz e ao ar); período de armazenamento. Para se exemplificar, apresenta-se na Tabela 2 o resultado do armazenamento de diferentes lúpulos em diferentes temperaturas:

Percentual de α -ácidos remanescentes no lúpulo após um ano:

Tabela 2 – Percentual de α -ácidos remanescentes no lúpulo após um ano de armazenamento.

Lúpulo	30 °C	1,1 °C	-6,6 °C	-15 °C
<i>Cascade</i>	35%	65%	74%	81%
<i>Mt. Hood</i>	41%	69%	77%	84%
<i>Tettnanger</i>	44%	71%	79%	85%
<i>Fuggle</i>	50%	75%	82%	87%
<i>Northern brewer</i>	65%	84%	88%	92%
<i>Galena</i>	78%	90%	93%	95%

Fonte: Adaptado e traduzido de Daniels (2000).

2.5 Leveduras e outros microrganismos cervejeiros

Os microrganismos são os grandes responsáveis pela transformação do mosto em cerveja a partir de seus metabolismos, destacando a fermentação etanólica (principalmente), láctica e acética, além de outras fermentações que podem ocorrer por microrganismos contaminantes ou em cervejas de fermentação espontânea.

As leveduras cervejeiras são os principais microrganismos responsáveis pela fermentação da cerveja, sendo estas fungos (Reino Fungi) unicelulares do Filo Ascomycota (Ascomicetos), destacando-se as seguintes espécies como leveduras cervejeiras:

- Família Saccharomycetaceae
 - *Saccharomyces cerevisiae*
 - Típica para cervejas Ale
 - *Saccharomyces pastorianus*
 - Típica para cervejas Ale
- Família Pichiaceae
 - Típicas para cervejas Lambic ou de fermentação mista/consorciada;)
 - *Brettanomyces bruxellensis*
 - *Brettanomyces lambicus*
 - *Brettanomyces clausenii*

Além das leveduras acima, há diversas outras leveduras do gênero *Saccharomyces*, assim como leveduras não-*Saccharomyces*, assim como diversos outros microrganismos, com destaque para algumas espécies de bactérias, podem fazer parte do processo de fermentação, podendo participar concomitantemente (fermentação mista ou consorciada), antes ou depois do processo fermentação pelas leveduras cervejeiras. São exemplos de bactérias envolvidas no processo cervejeiro:

- Acidófilas (realizam fermentação acética)
 - Família Acetobacteraceae
 - *Acetobacter aceti*
 - *Acetobacter pastorianus*
- Lácticas (realizam fermentação láctica):
 - Lactobacillaceae
 - *Lactobacillus brevis*
 - *Lactobacillus buchneri*
 - *Pediococcus spp.*

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Uma das formas de se identificar as espécies de leveduras é por meio de chaves taxonômicas, sendo um exemplo para leveduras do gênero *Saccharomyces* apresentado no Quadro 6, proposto por Kurtzman e Fell (1998).

Quadro 6 – Chave taxonômica simplificada para leveduras *Saccharomyces spp.*

Id	Id-2	Característica	Chave
1	a	Temperatura máxima de crescimento acima de 30°C	Ir par 3
	b	Crescimento ausente acima de 30°C	Ir para 2
2	a	Sacarose, rafinose e trealose fermentados	<i>S. barnettii</i>
	b	Sacarose, rafinose e trealose não fermentados	<i>S. rosini</i>
3	a	Etilamine-HCl assimilado	Ir para 4
	b	Etilamine-HCl não assimilado	Ir para 6
4	a	Crescimento na presença de 1000 ppm de cicloheximida	<i>S. unisporus</i>
	b	Sem crescimento na presença de 1000 ppm de cicloheximida	Ir para 5
5	a	Maltose, rafinose e etanol assimilados	<i>S. kluyveri</i>
	b	Maltose, rafinose e etanol não assimilados	<i>S. spencerorum</i>
6	a	Maltose assimilada	Ir para 7
	b	Maltose não assimilada	Ir para 10
7	a	Crescimento em meio sem vitamina livre	<i>S. bayanus</i>
	b	Sem crescimento em meio sem vitamina	Ir para 8
8	a	D-manitol assimilado, temperatura máxima de crescimento 37° C ou maior	<i>S. paradoxo</i>
	b	D-manitol não assimilado, temperatura de crescimento máxima inferior a 37° C ou variável a 37° C	Ir para 9
9	a	Mecanismo de transporte ativo para frutose presente; crescimento máximo na temperatura 34 ° C	<i>S. pastorianus</i>
	b	Mecanismo de transporte ativo para frutose não presente; máximo de variável de temperatura de crescimento	<i>S. cerevisiae</i>
10	a	Sacarose, rafinose e trealose fermentados	<i>S. exiguus</i>
	b	Sacarose, rafinose e trealose não fermentados	Ir para 11
11	a	Crescimento na presença de 1000 ppm de cicloheximida	<i>S. servazzii</i>
	b	Sem crescimento na presença de 1000 ppm de cicloheximida	Ir para 12
12	a	D-ribose normalmente assimilado; 8 a ± 10 cromossomos; 600 ± 3000 quilobases	<i>S. castellii</i>
	b	D-ribose não assimilada, principalmente ascósporos altamente invasivas em agar de acetato; 8 cromossomos; 400 ± 2200 quilobases	<i>S. transvaalensis</i>
	c	D-ribose normalmente não assimilada, 7 ± 9 cromossomos; 750 ± 3000 quilobases	<i>S. dairiensis</i>

Fonte: Traduzido e adaptado de Kurtzman e Fell (1998).

As cervejas são classificadas tipicamente em Lager (fermentação de fundo), Ale (Fermentação de topo) e Lambic (Fermentação espontânea), diferindo no tipo de fermentação e/ou espécie de levedura utilizada, e nas condições, sendo:

● **Cervejas Lager:**

- Fermentação de fundo (Baixa fermentação);
- Principal levedura utilizada: *Saccharomyces pastorianus*;
 - Fermentação etanólica.
- Temperatura de fermentação: entre 8 e 12 °C;
- Menor formação de *Kräusen* durante a fermentação;
- Exemplos de estilos: *American lager*, *Vienna lager*, *Smoked bier* etc.

● **Cervejas Ale:**

- Fermentação de topo (Alta fermentação);
- Principal levedura utilizada: *Saccharomyces cerevisiae*;
 - Fermentação etanólica.
- Temperatura de fermentação: entre 15 a 24 °C;
- Maior produção de ésteres e fenóis;
- Maior formação de *Kräusen* durante a fermentação;
- Exemplos de estilos: *Pale ale*, *Weissbier*, *Indian Pale Ale* etc.

● **Cervejas Lambics:**

- Misto de processos fermentativos – Ales de processo espontâneo;
- Principais espécies de leveduras: *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus* (ou outras), *Saccharomyces* spp.;
- Demais microrganismos: *Pediococcus* spp., *Lactobacillus* spp.;
- Temperatura de fermentação: 20 a 28 °C;
- Exemplos de estilos: *Lambic doux*, *Gueuze*, *Fruit lambics* etc.

Com relação as leveduras, utiliza-se também o conceito de cepas ou estirpe para as mesmas, sendo que cada cepa, dentro de uma mesma espécie, apresentará similaridades morfológicas e fisiológicas que resultarão em perfis de fermentação.

Existem muitas cepas comerciais cervejeiras, sendo que podem ser classificadas de acordo com algumas características comuns que possuem em:

● **Cepas Ale:**

- Neutras/Limpas: Apresentam baixa produção de ésteres, fenóis e álcoois superiores, resultando em um perfil neutro de odores e gostos, com alguma similaridade ao perfil das cepas lagers (*lagerlike*). Tipicamente usados em estilos de cervejas nos EUA;
- Frutadas: Destacam-se pela alta produção de ésteres frutados, podendo apresentar odores/aromas sutis de mel e pinus. Apresentam comumente fermentação mais lenta e floculação mediana. Floculam rapidamente,

resultando em uma cerveja mais límpida. Usadas tipicamente nas Ales inglesas e alguns estilos norte-americanos;

- Híbridas: São cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (para cervejas Ale) que são capazes de fermentar em temperaturas mais baixas, como cepas de Lagers, resultando em um perfil sensorial similar às Lagers (*lagerlike*), com traços de compostos sulfurados. Comparativamente, fermentam mais lentamente que as cepas frutadas, com floculação média. Tipicamente usadas nos estilos Altbier e Kölsch;
- *Fenólicas*: Destacam-se pela alta produção de fenóis e estéreis. Destaca-se a maior produção de 4-Vinil-guaiacol (odor/sabor de cravo) e o odor de banana. Comumente tem alta atenuação e baixa floculação. Usadas tipicamente em cervejas de trigo alemãs e belgas;
- *Excêntricas*: Produzem sabores incomuns/distintos, como terrosos, de curral (odor de cavalo, couro etc.). Tipicamente usadas em estilos Belas, principalmente nas Lambics. Costumam apresentar alta atenuação aparente e baixa floculação.

- **Cepas Lagers:**

- *Cheias/full/maltadas*: Produzem um perfil sensorial mais arredondado e maltado, produzindo, comumente, um pouco de compostos sulfurados e frutados que as cepas secas. Tipicamente usada nos estilos Munich Helles, *Munich Dunkel* e outros estilos de Lagers;
- *Secas/crisp/dry*: Resultam em cervejas com perfil seco, refrescantes e límpida. Tipicamente usadas nos estilos *German lagers*.

- **Cepas *Brettanomyces***: contém leveduras do gênero *Brettanomyces*, sendo. Proliferam lentamente, gerando perfil diferenciado de sabores (suor, couro etc.). Usadas tipicamente nas cervejas Lambics ou fermentações mistas.

Destaca-se que, após elaboração da receita, tendo-se o estilo desejado e a gravidade original específica estimada, deve-se escolher a cepa e calcular corretamente a taxa de inoculação, para que não haja excesso ou falta de leveduras. A falta de leveduras poderá gerar menor atenuação aparente, além de maior risco de contaminação e o excesso poderá gerar maior produção de ésteres, maior concentração de diacetil e outros problemas.

2.6 Demais insumos de origem animal ou vegetal

O uso de outros ingredientes de origem vegetal, animal ou qualquer outro – desde que apto para consumo humano – é autorizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Há uma grande variedade de insumos que podem compor a produção (como frutas, ervas, flores, condimentos, mel de abelha etc.), resultando em possibilidades diversas de bebidas.

Há escolas, como a Belga, que faz amplo uso de condimentos e outros insumos, criando uma variedade muito ampla de estilos de cervejas. Por exemplo, no estilo belga de trigo *witbier*, utilizam-se, comumente, o coentro (*Coriandrum sativum*), o cardamomo (*Elettaria cardamomum*) e a casca de laranja.

No Brasil, diversas cervejarias têm feito uso de frutas e outros produtos regionais como diferencial na produção de estilos próprios, buscando-se formar/caracterizar uma possível futura escola brasileira de cerveja.

Destaca-se que é autorizada a produção de cervejas com o *gruit*, em substituição ao lúpulo, devendo estar ser denominada “Cerveja *gruit*”. O *gruit* teve seu uso bem disseminado nos séculos X a XV, anteriormente ao uso amplo do lúpulo, sendo este composto por flores, raízes, cascas etc. Tipicamente se usavam ervas, como: Artemísia (*Artemisia vulgaris*), Aquileia (*Achillea millefolium*), Erva-de-São-João (*Glechoma hederacea*), Marroio (*Marrubium vulgare*), Mirica (*Myrica gale*), Urze (*Calluna vulgaris*). Atualmente, pode-se utiliza no *gruit* somente insumos aprovados para consumo humano pelos órgão de regulatórios.

2.7 Aditivos e coadjuvantes de tecnologia de fabricação

Incluem-se como insumos os aditivos e coadjuvantes de tecnologia de fabricação, desde que autorizados pela Anvisa (decreto 6871 de 04/06/2009):

VII – aditivo: qualquer ingrediente adicionado intencionalmente à bebida, sem propósito de nutrir, com o objetivo de conservar ou modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a produção, elaboração, padronização, engarrafamento, envasamento, armazenagem, transporte ou manipulação;

VIII – coadjuvante de tecnologia de fabricação: a substância ou mistura de substâncias empregadas com a finalidade de exercer ação transitória, em qualquer fase de elaboração da bebida, e dela retirada, inativada, ou transformada, em decorrência do processo tecnológico utilizado, antes da obtenção do produto final, podendo, no entanto, resultar na presença não intencional, porém inevitável, de resíduos ou derivados no produto final; (BRASIL, 2009, Artigo 2º)

Sinteticamente, os aditivos autorizados podem entrar em qualquer etapa da produção, visando objetivos específicos, como agentes antioxidantes, estabilizantes e

devem constar no rótulo, uma vez que se encontram no produto final. Destaca-se que o uso de aditivos com fins exclusivos de conservação são proibidos pelo decreto 6871 de 04/06/2009. Além disso, deve-se ficar atento as atualizações das listas de compostos autorizados para uso como aditivo na cerveja. A resolução da Anvisa RDC nº 65/2011 traz uma dessas listas. São exemplos de aditivos usados em cervejas:

- Acidulante/ Regulador de acidez:
 - INS 270: Ácido láctico (L-, D- e DL-);
 - INS 330: ácido cítrico.
- Antioxidantes:
 - INS 221: Sulfito de sódio;
 - INS 315 Ácido eritórbico, ácido isoascórbico;
 - INS 316: Eritorbato de sódio, isoascorbato de sódio – um dos aditivos mais usados nas cervejas para dar estabilidade de sabor.
- Estabilizantes:
 - INS 405: Alginato de propileno glicol – é composto por um extrato de algas marinhas que auxilia na estabilidade da espuma;
 - INS 1201: polivinilpirrolidona – contribui para a manutenção da estabilidade química e clareza ao longo do tempo e por variações de temperatura.
- Antiespumante:
 - INS 900a: Dimetilsilicone, dimetilpolisiloxano, polidimetilsiloxano.

Os coadjuvantes de tecnologia de fabricação são substâncias usadas durante a fabricação da cerveja, visando a melhoria e otimização da etapa envolvida ou etapa posterior. Uma vez que estes insumos não permanecerem ou permanecerem inativos na cerveja após engarrafamento, os mesmos não estão presentes nos rótulos. Por exemplo, os agentes de clarificação usados na fermentação ou maturação, assim como materiais filtrantes.

A utilização destes deve ocorrer nas menores concentrações possíveis para se alcançar o objetivo pretendido, devendo os mesmos serem autorizados para uso no processo pelas agências reguladoras. Por exemplo, indica-se a resolução da Anvisa RDC nº 64/2011, a qual apresenta uma lista das substâncias permitidas, assim como suas respectivas funções:

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

- Clarificação/filtração: ácido tânico, albumina, bentonita, carragenana, caseína, gelatina (derivados da hidrólise parcial do colágeno), Polivinilpirrolidona insolúvel, terra diatomácea etc.;
- Controle de microrganismos: ácido fosfórico; ácido sulfúrico etc.;
- Catalisador: ácido fosfórico; ácido láctico etc.;
- Enzimas e preparações enzimáticas (deves estar previstas em regulamentos técnicos específicos);
- Nutrientes para leveduras: autolisado de leveduras; cloreto de amônia, Lactato de cálcio; Tiamina (vitamina B1) etc.

Comercialmente é possível de se encontrar diversos coadjuvantes de tecnologia de fabricação, como por exemplo:

- *Clearmax MS*: auxilia na clarificação da cerveja, geralmente usado durante a fervura do mosto ou maturação. Composto por ácidos tânicos naturais, atua principalmente sobre proteínas de alto peso molecular, agindo como estabilizante sensorial e coloidal. Contribui para redução do envelhecimento da cerveja por inibir lipoxigenases (LOX) do mosto, além de reduzir os aldeídos e gerar aumento do potencial antioxidante;
- *Isinglass*: auxilia na clarificação da bebida durante a maturação. Produzido a partir da bexiga natatória de peixes, dessa forma, cervejas veganas não devem fazer uso deste. Como curiosidade, a Guinness utilizava *Isinglass* em sua fabricação, iniciando o processo de retirada deste em 2015 e, desde 2018, não usando-o mais;
- Musgo irlandês (*Irish moss*): é uma macroalga (*Chondrus crispus*) que auxilia na clarificação da cerveja, sendo geralmente utilizado durante a fervura do mosto. Contribui com a formação do *trub* a partir da aglutinação de proteínas, taninos, restos de lúpulos etc. Tem ação similar ao *Whirlfloc*;
- *Whirlfloc*: atua na clarificação da cerveja, geralmente usado na fervura do mosto. Composto por carragena purificada de algas marinhas.

Os coadjuvantes de tecnologia de fabricação que são usados nas etapas finais para ajustes, como de brilho/turbidez, de odores, aromas e gostos são chamados de *finings*, auxiliando na remoção de sulfetos, proteínas, polifenóis e outros compostos. São exemplos de *finings* para clarificação: ácido tânico, albumina, bentonita, carragena, caseína, gelatina, Polivinilpirrolidona insolúvel, terra diatomácea.

3 Introdução às enzimas

As enzimas são moléculas vitais para todos organismos vivos, uma vez que atuam em diversas reações, viabilizando as reações por aumentar sua velocidade, dando condições biológicas para seu funcionamento.

A maior parte das enzimas são cadeias polipeptídicas, ou seja, são proteínas com função catalítica (biocatalisadores), dessa forma, apresentam em sua estrutura uma sequência de resíduos aminoácidos mantidos por ligações peptídicas. Sua estrutura poderá ser composta com cadeia proteica (estrutura terciária) ou por mais de uma cadeia (estrutura quaternária).

Apesar da grande maioria das enzimas serem compostas por cadeias polipeptídicas, tem-se também enzimas formadas por moléculas de RNA, as ribozimas, as quais apresentam atuação similar às enzimas proteicas (para este eBook, focaremos nas enzimas proteicas).

Com relação a estrutura das enzimas, a grande maioria apresenta mais de 100 resíduos de aminoácidos, ou seja, massa maior que 10 kDa, sendo que muitas apresentam cofatores metálicos (ex. Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) ou complexos orgânicos, as coenzimas.

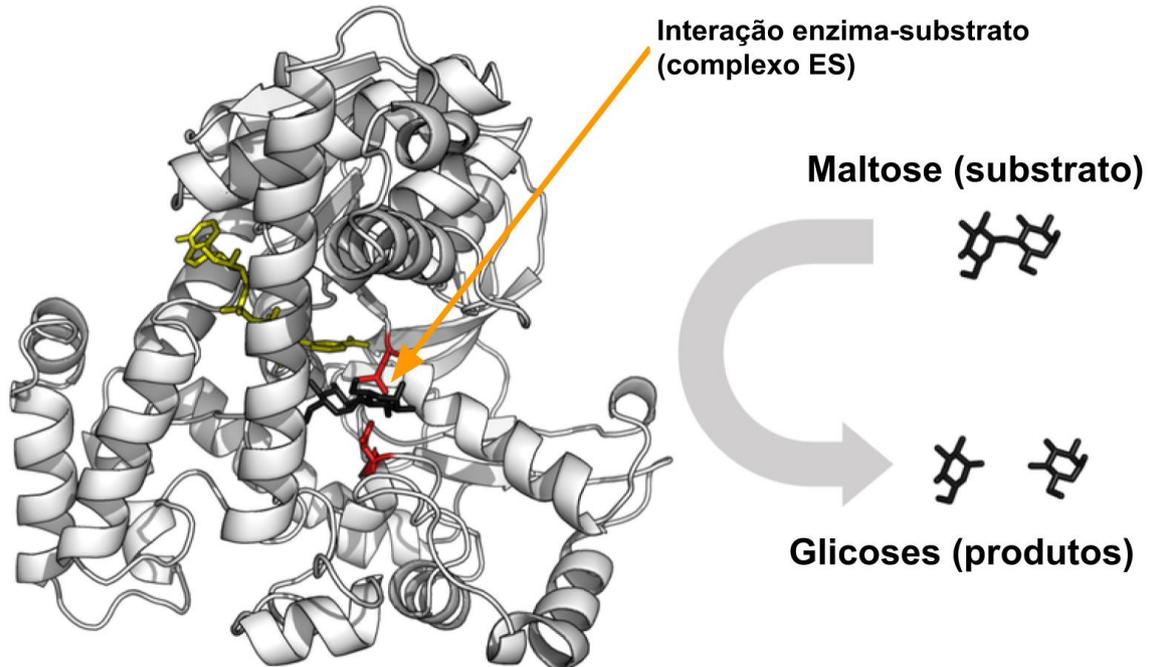
O princípio do aumento da velocidade das reações pelas enzimas se dá pela redução da energia necessária para se alcançar o estado de transição para que a reação ocorra, ou seja, reduz-se a energia de ativação da reação, com isso a reação pode ocorrer em um tempo menor, a velocidade de formação de produto aumenta. Destaca-se que, apesar das enzimas reduzirem a energia de ativação, elas não alteram a energia de energia do sistema (ΔG).

Por exemplo, durante a mosturação, as enzimas amilolíticas presentes nos grãos de malte e outros adjuntos atuam reduzindo a energia de ativação de diversas reações, como a hidrólise das ligações das cadeias do amido, assim, aumentando a velocidade da reação, ou seja, da sacarificação. Outro exemplo se dá com as enzimas proteolíticas, as quais viabilizam a hidrólise das proteínas e oligopeptídios presentes no mosto durante a parada proteica da mosturação.

Para que a reação ocorra mediada pelas enzimas, os substratos precisam interagir com sua estrutura e esta interação se dá em uma região da enzima denominada sítio ativo. O sítio ativo da enzima é uma pequena região da enzima, revestida por cadeias laterais de aminoácidos (podendo estar presente os cofatores), com os quais os substratos interagem. A medida que o substrato interage com o sítio ativo, formando-se o complexo enzima-substrato (ES), a estrutura da enzima tem pequenas alterações conformacionais (modelo do encaixe induzido), destacando-se que a especificidade para interação do

substrato no sítio ativo é extremamente alta, resultando em um número extremamente reduzido de compostos que podem interagir com o sítio ativo. Para se exemplificar, apresenta-se na Figura 5 a formação do complexo ES da enzima α -glicosidase (maltase), a qual atua na mosturação, catalisando a hidrólise da maltose em duas moléculas de glicose.

Figura 5 – Complexo enzima-substrato da enzima α -glicosidase com seu substrato (maltose)

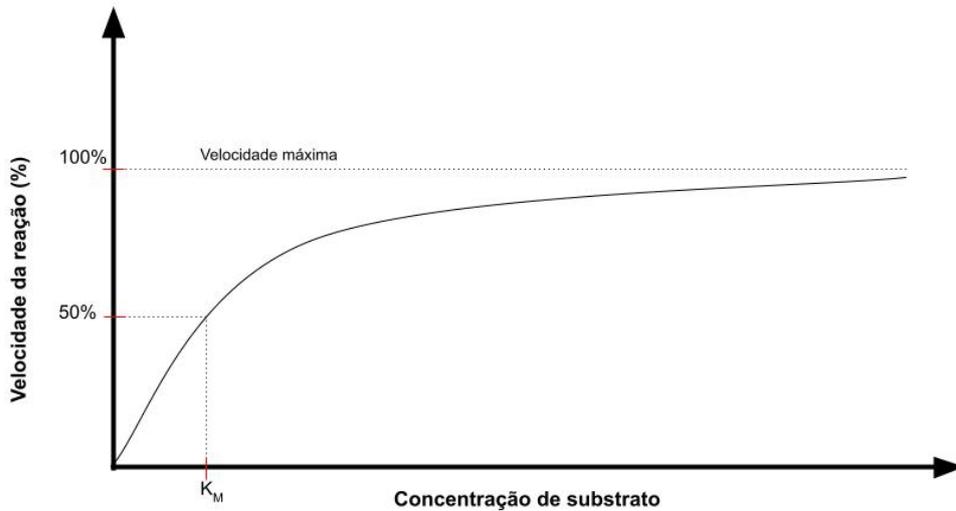


Fonte: Traduzido e adaptado de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Glucosidase_enzyme.png

Cada enzima terá afinidade diferente por seus substratos, ou seja, o valor da constante de Michaelis-Menten (K_M) será diferente. O K_M foi proposto por dois pesquisadores (Leonor Michaelis e Maud Menten), resultado da relação entre as constantes de dissociação da reação enzimática, sendo que seu valor corresponde à concentração de substrato para se alcançar metade da velocidade máxima da reação catalisada pela enzima. Dessa forma, o K_M pode indicar a afinidade da enzima por seu substrato, pois quanto maior for seu valor, indica-se uma necessidade de uma maior concentração do substrato para se alcançar metade da velocidade máxima.

As enzimas que seguem o modelo de cinética proposto por Michaelis e Menten são chamadas de enzimas Michaelinas. Observa-se no gráfico (Figura 6) que a velocidade da enzima aumenta a medida que se aumenta a concentração do substrato (altas concentrações de substrato permite-se alcançar 100% da velocidade máxima da enzima). Como modelo distinto, tem-se as enzimas alostéricas, as quais apresentam compostos que podem modular sua atividade, aumentando ou reduzindo a atividade das enzimas quando interagindo com estas.

Figura 6 – Gráfico ilustrativo da velocidade de uma enzima Michaelina com relação à concentração de seu substrato.



Fonte: O autor, a partir de Marzzoco e Torres, 2015.

Destaca-se, no caso de enzimas que atuam sobre cadeias, que o modo como as enzimas atuam sobre os substratos poderá classificá-las como endoenzimas (atuam no interior das cadeias) ou exoenzimas (atuam sobre as extremidades das cadeias) ou mistas.

De acordo com o tipo de reação que catalisa, as enzimas são classificadas em: oxirredutases (EC⁶ 1); transferases (EC 2); hidrolases (EC 3); liases (EC 4); isomerases (EC 5); ligases (EC 6); translocases (EC 7):

- **Oxirredutase (EC1):** reações de oxidorredução ($AH_2 + B \rightleftharpoons A + BH_2$). Sua nomenclatura pode incluir os termos desidrogenase, redutase, oxidase, oxigenase, peroxidase, catalase e dismutase. No contexto cervejeiro se destaca a álcool desidrogenase das leveduras (ADH-1), a qual catalisa a reação de formação de etanol a partir de acetaldeído;
- **Transferases (EC2):** reações de transferência de grupos químicos ($A-X + B \rightleftharpoons A + B-X$). Um exemplo no mosto cervejeiro é a amido fosforilase, a qual atua sobre as extremidades da cadeia do amido, removendo uma glicose e transferindo um fosfato inorgânico para esta, formando uma glicose 1-fosfato;
- **Hidrolase (EC3):** reações de hidrólise (transferência dos grupos funcionais da água). As principais enzimas da mosturação se encontram nesta classe, por exemplo: enzimas amilolíticas – hidrólise ligação glicosídica (ex.: sacarase, amilases, glucanases, glicosidases, limite-dextrinases); proteolíticas – hidrólise de

6 EC: *Enzyme Commission Number* – número determinado pelo *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (NC-IUBMB), sendo um sistema para nomenclatura das enzimas, no qual o primeiro número indica a classe da reação.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

ligação peptídica (ex.: exopeptidases, endopeptidases e proteases); esterases – hidrólise ligação éster (ex.: feruloil esterase);

- **Liases (EC4):** reações que adicionam grupos em duplas ligações ou removem grupos, ficando a dupla ligação. Como exemplo se apresenta a fumarase, a qual integra o ciclo de Krebs, presente organismos aeróbios ou aeróbios facultativos, como as leveduras;
- **Isomerase (EC5):** reações de isomerização (formação de compostos isômeros). Como exemplo se apresenta a fosfoglico isomerase, sendo esta a segunda enzima envolvida na glicólise, presente em praticamente todas células, assim como nas leveduras;
- **Ligase (EC6):** reações de adição de moléculas, com uso de ATP ($A + B \rightleftharpoons A-B$), também chamadas de sintetases/sintases. Como exemplo se apresenta a piruvato carboxilase, presente na grande maioria das células, assim como nas leveduras;
- **Translocase (EC7):** reações de translocação de moléculas entre meios separados por membranas celulares (movimentação de moléculas entre as membranas biológicas). Há diversas translocases nas células, como as envolvidas presentes nas mitocôndrias. Um exemplo interessante se dá nas bactérias gram positivas, muitas das quais usam translocases para excretar compostos no meio.

Uma vez que a maior parte das enzimas são formadas por cadeias polipeptídicas, alterações no pH e na temperatura do meio influenciarão na estrutura da cadeia e, como consequência, altera-se também o sítio ativo, desta forma, alterando a afinidade da enzima por seu substrato. Quanto mais se altera o pH e a temperatura, para fora das faixas ótimas, mais se altera a estrutura e, como consequência, a afinidade da enzima por seu substrato, alterando-se a velocidade da reação.

Dessa forma, um determinado pH e temperatura a enzima terá a conformação que resultará na conformação para melhor interação com o substrato (maior probabilidade de se formar o complexo enzima-substrato) e, conseqüentemente, na maior velocidade da reação. Dessa forma, cada enzima envolvida no processo cervejeiro terá o pH ótimo e a temperatura ótima e conhecer essas características de cada enzima e as características dos insumos envolvidos na produção, auxiliará na escolha das temperaturas e pH da mosturação para se alcançar o objetivo do mosto que será fermentado. A seguir esses fatores de influência serão explorados, focando o contexto cervejeiro.

A preocupação com o controle do pH e temperatura durante a mosturação desse ser extremo, pois garante o planejamento para as atividades enzimáticas (rampas de temperatura), dessa forma, o uso de controles automatizados para a temperatura da

mostura é indicado. Com relação ao pH, pode-se ajustar o mesmo no mosto e, até mesmo, usar compostos que estabilizam o pH, como o pH *Stabilizer*, um tapão que tem como objetivo manter o pH em torno de 5,2.

Além da influência na velocidade da reação pela concentração de substrato, pH e temperatura do meio, deve-se destacar também os inibidores enzimáticos, os quais podem reduzir ou até mesmo cessar a atividade de uma enzima. De acordo com a estabilidade da ligação do inibidor com a enzima, podem ser classificados como irreversíveis ou reversíveis.

Os inibidores irreversíveis se ligam às enzimas de forma, praticamente, definitiva, inativando-a. Muitos defensivos agrícolas usados na agricultura, como os organofosforados, têm esse tipo de ação.

Os inibidores reversíveis se ligam à enzima de forma que podem se desligar da mesma (com maior ou menor probabilidade) e podem ser divididos em competitivos e não competitivos. Os competitivos se ligam ao sítio ativo da enzima, competindo pelo mesmo com o substrato (diversos compostos antibióticos têm o princípio da inibição competitiva, com a sulfanilamida). Os inibidores não competitivos se ligam em outros sítios de ligação, sendo que muitos metais pesados, como chumbo (Pb^{2+}) e mercúrio (Hg^{2+}), atuam dessa forma inibindo as enzimas.

Dessa forma, inibidores presentes nos insumos, como grão de malte e água, poderão impactar diretamente na atividade das enzimas presentes na mostura, prejudicando o processo de mosturação.



Facilitando o entendimento

- 1) Saiba mais sobre as enzimas e sua função catalítica a partir das **videoaulas** com o prof. Ângelo Cortelazzo, abordando conceitos sobre especificidade enzimática, fatores de influência na atividade etc. (<https://www.youtube.com/watch?v=kTgDYPRA-BE>) e cinética enzimática: <https://www.youtube.com/watch?v=P5vlsX8SHag>.
- 2) Leia o capítulo 5 (Enzimas) do livro organizado pelo prof. Bruno Martin Dala-Paula: **[Química & Bioquímica de Alimentos](#)**.

4 Enzimas do malte

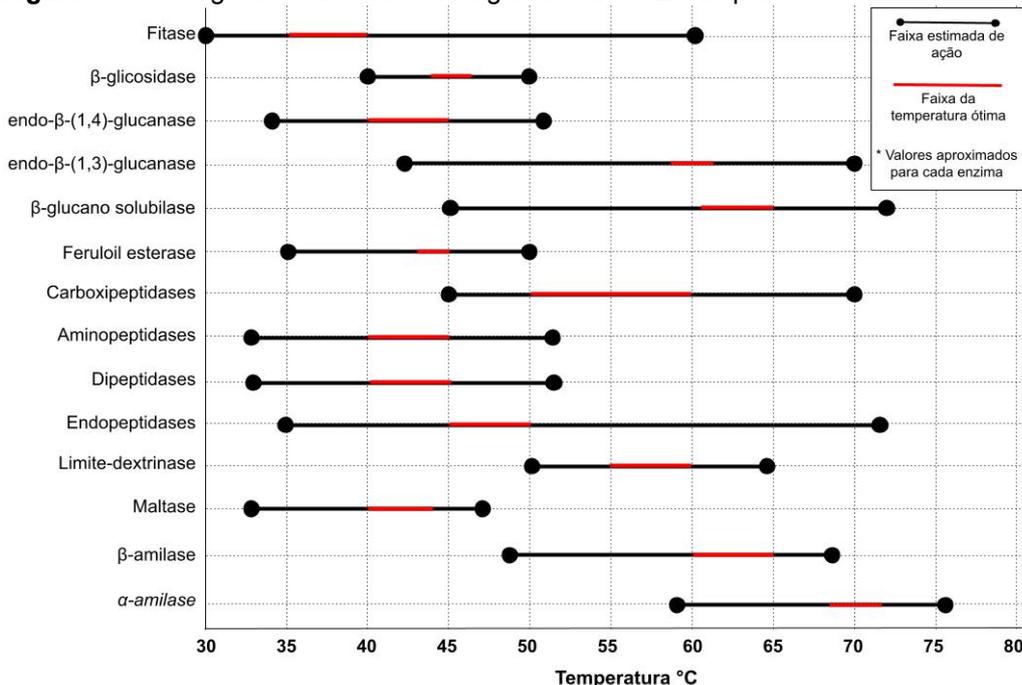
As enzimas presentes nos cereais desempenham importante papel na malteação e na mosturação, pois aceleram as reações, tornando possíveis as reações bioquímicas durante o processo de malteação dos cereais, assim como na mosturação, durante as rampas de temperatura, tendo como foco o perfil desejado do mosto.

Destaca-se que muitas das enzimas nos maltes foram produzidas ou modificadas durante a malteação. Por exemplo, α -amilase é produzida, prioritariamente, na malteação, enquanto a β -amilase praticamente não é produzida, entretanto, tem seu carbono terminal removido, acarretando em maior termoestabilidade e afinidade por seu substrato (amido).

Além disso, durante a malteação ocorrem modificações em diversas moléculas presentes no grão, como nas proteínas, amido, lipídios, β -glucanos etc., tornando o malte melhor preparado para a mosturação, dessa forma, os maltes podem variar quanto ao grau de modificação (quanto menor o grau de modificação, maiores cuidados serão demandados durante a mosturação).

As principais enzimas (Figura 7) no mosto atuam sobre carboidratos, proteínas, β -glucanos e diversos compostos com ligações ésteres, hidrolisando as ligações destas moléculas, desta forma, liberando produtos passíveis de serem utilizados pelas leveduras e viabilizando as condições adequadas do mosto para fermentação pelas leveduras cervejeiras e/ou outros microrganismos. Além disso, diversas reações enzimáticas melhoram a eficiência do processo, como pela redução da viscosidade do mosto.

Figura 7 – Visão geral da atividade de algumas das enzimas presentes na mostura



Fonte: O autor, a partir BRIGGS *et al.*, 2004, MUXEL, 2022 e Braukaiser
http://braukaiser.com/wiki/index.php/File:PH_and_temp_enzyme_matrix.jpg

As faixas de temperatura de atividade de cada enzima e suas faixas ótimas (Figura 7) podem variar na mostura, uma vez que cada mosto é composto por diferentes misturas de maltes, concentrações distintas de sais (por exemplo, o cálcio no mosto aumenta a termoestabilidade da α -amilase).

Cada enzima (Figura 7) apresentará faixas de temperatura e pH de funcionamentos diferentes, além dos pHs e temperaturas ótimos, de tal forma que, em cada parada da mosturação, poderão atuar diversas enzimas simultaneamente.

Destacam-se na mosturação as ações das hidrolases (EC. 3), as quais são responsáveis pela hidrólise das ligações peptídicas (de proteínas e outros peptídios), glicosídicas do tipo alfa – α (de carboidratos, com destaque do amido) e do tipo beta – β (de cadeias de β -glucanos), além de ligações de ésteres. Será apresentada também uma enzima da classe das transferases (EC. 2), uma fosforilase (amido fosforilase) que atua sobre as cadeias de amido.

Ao longo das apresentações das enzimas, serão destacadas suas funções, reações que estão envolvidas, pH e temperatura de atividade ótima, assim como sua estrutura, destacando o código PDB⁷ (Ex. β -amilase – [PDB 2XFR](#)), assim como o número EC – composto por quatro números (Ex. β -amilase – [EC 3.2.1.2](#)), de tal forma que o leitor poderá buscar maiores informações sobre as mesmas a partir do acesso ao site do RCSB e de buscas do número EC.

Destaca-se que o PDB usado em algumas enzimas não se trata da estrutura da enzima presente no malte, mas de alguma enzima homóloga, sendo apresentada somente para efeito ilustrativo das estruturas das enzimas.



Facilitando o entendimento

- 1) Busque informações sobre as enzimas digitando o número EC no *link* <https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/search.html>.
- 2) Conheça a estrutura tridimensional das enzimas, além de outras informações, digitando o código PDB no *link* <https://www.rcsb.org>.
- 3) Compreenda melhor a estrutura dos carboidratos no capítulo 2 (Carboidratos) do livro organizado pelo prof. Bruno Martin Dala-Paula: [Química & Bioquímica de Alimentos](#).

⁷ *Protein Data Bank* – Base dados com informações experimentais das estruturas de biomoléculas de diversos organismos, incluindo proteínas e enzimas.

Destacam-se as seguintes enzimas presentes no mosto cervejeiro produzido a partir de grãos de maltes moídos:

- Hidrólises de ligações glicosídicas tipo α (hidrolases)
 - β -amilase
 - α -amilases (produzida durante a germinação no aleurona)
 - Limite-dextrinase
 - α -glicosidase (Maltase)
 - Invertase (Sacarase)
- Hidrólises de ligações glicosídicas tipo β (hidrolases)
 - β -glicosidase
 - β -glucanases
 - β -glucano solubilase
- Hidrólise de ligações peptídicas (hidrolases)
 - Exopeptidases
 - Carboxipeptidases
 - Aminopeptidases
 - Dipeptidases
 - Endopeptidases
 - Proteases
- Hidrólise de ésteres ligados aos polissacarídios (hidrolases)
 - Esterase de ácido ferúlico (feruloil esterase)
- Hidrólise de ligações monoéster fosfóricas
 - Mio-inositol hexa-quisfosfato fosfohidrolase (fitase)
- Transferência de fosfato (transferase)
 - Fosforilases (amido fosforilase)

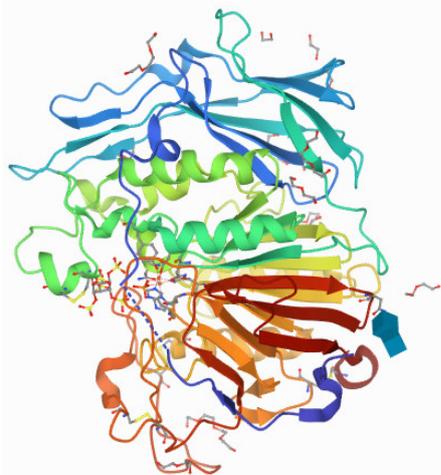
Ressalta-se que grande parte das enzimas de interesse cervejeiro são da classe hidrolase, ou sejam, hidrolisam (rompem) ligações, como as peptídicas (principalmente de proteínas e oligopeptídios) e glicosídicas (principalmente do amido e oligosacarídios).

Cada enzima presente no mosto apresenta atividade ótima em temperaturas e pHs diferentes, sendo que, nas condições das cervejarias, várias das enzimas se mantêm ativas muito além do esperado em laboratório (com enzimas purificadas) decorrente das complexas interações com outras moléculas que ocorrem no mosto durante a mosturação, como é o caso da interação da α -amilase com cálcio iônico.

Apresenta-se a seguir o detalhamento de cada uma dessas enzimas, assim como das reações que catalisam e de sua importância na mostura. A compreensão destas será importante para o planejamento das temperaturas na mosturação.

Fitase (Mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolase)

Figura 8 – Estrutura 6GJ2



Fonte: Disponível em:
<https://www.rcsb.org/structure/6GJ2>

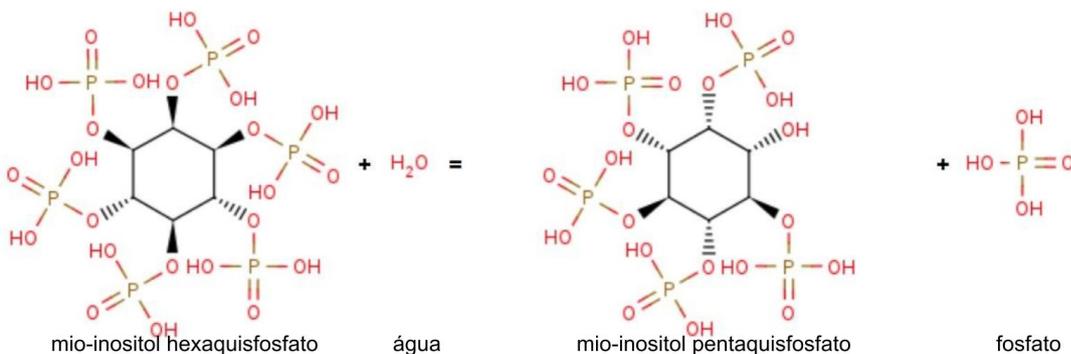
As fitases (Figura 8) pertencem à classe das hidrolases, sendo hidrolases de monoéster fosfóricos (EC: 3.1.3.x; PDB: 6GJ2⁸), estando presente, por exemplo, em plantas (6-fitase, EC: 3.1.3.26), e microrganismos (3-fitase, EC: 3.1.3.8). A 6-fitase também é chamada de 4-fitase, fitato 6-fosfatase ou Mio-inositol hexa-quisfosfato 6-fosfohidrolase.

Sua nomenclatura indica o ponto inicial da hidrólise do fitato (mio-inositol hexaquisfosfato): 3-fitase, terceira ligação éster; 5-fitase, quinta ligação éster; 6-fitase, sexta ligação éster.

As fitases atuam sobre o fitato, desfosforilando este, liberando os fosfatos um a um, tendo como produtos finais o inositol e fosfatos inorgânicos, contribuindo com a acidificação do mosto. O fitato corresponde a forma aniônica, desprotonada, do ácido fítico, encontrado comumente nas plantas (ex.: aveia, cevada, milho e trigo).

Sua atividade ótima na mostura ocorre entre 30 e 56 °C, desnaturando a partir de 60 °C. Seu pH ótimo se encontra em torno de 5,5. Historicamente, seu foco estava na parada de acidificação, geralmente entre 35 e 40 °C, principalmente para cervejas Pilsen e uso de água muito mole, assim como para mosturas com maltes pouco modificados. Entretanto, como uso dos malte com maior grau de modificação, assim como pelo controle dos sais da água e pH da mostura, esta parada vem se tornando cada vez menos utilizada, em razão de seu baixo custo-benefício. De toda forma, quando se faz a paradas do β-glucano, ferúlica e proteica há atividade desta enzima concomitante às outras enzimas.

Figura 9 – Reação geral da hidrólise do fitato – primeira desfosforilação.

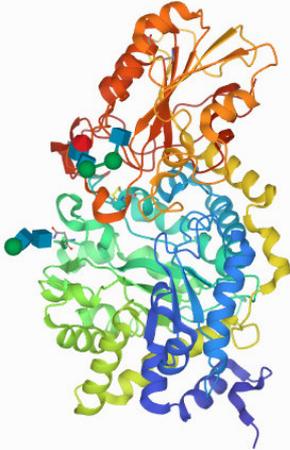


Fonte: Traduzido de Brenda – <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.3.8> (CC BY 4.0).

8 Estrutura exemplo: fitase ácida de trigo, isoforma B2, complexo com hexasulfato de inositol.

β -glicosidase

Figura 10 – Estrutura 1IEW



Fonte: Disponível em:

<https://www.rcsb.org/structure/1IEW>

A β -glicosidase (Figura 10) pertence à classe das hidrolases (EC: 3.2.1.21; PDB: 1IEW), atuando no fim de cadeias (exoenzima) de alguns polissacarídeos (celobiose, laminaribiose ou outra cadeia de beta-glucanos). Hidrolisa as ligações β -1,4 na porção não redutora ao fim da cadeia, com a liberação de glicoses. Apresenta ação sinérgica com as β -glucanases (Figura 11)

Sua atividade ótima na mostura ocorre em torno de 45 °C e pH entre 4,5 e 5,5. Sua ação é importante em maltes pouco modificados e com maior quantidade de β -glucanos.

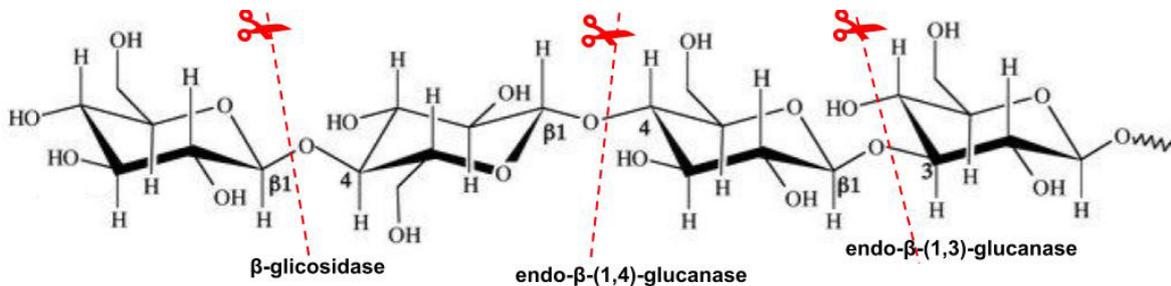
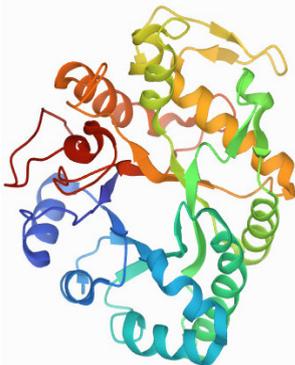


Figura 11 – Estrutura do β -glucano e pontos de hidrólise por diferentes enzimas

Fonte: Adaptado de PILLAI R.; REDMOND, M.; RÖDING (2005). Disponível em https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2005.00268_3.x

β -glucanases

Figura 12 – Estrutura 1GHS



Fonte: Disponível em:

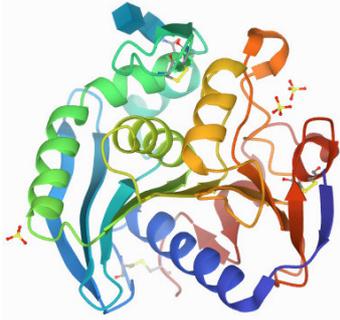
<https://www.rcsb.org/structure/1GHS>

As β -glucanases (Figura 12) são hidrolases (EC: 3.2.1.6, PDB: 1GHS) que atuam preferencialmente sobre algumas das ligações β de β -glucanos, agindo com a β -glicosidase em sinergia. São duas endoenzimas: endo- β -(1-3)-glucanase e endo- β -(1,4)-glucanase (Figura 11).

A endo- β -(1,3)-glucanase (EC 3.2.1.39) apresenta temperatura ótima na mostura em torno de 60 °C, desnaturando a partir de 70 °C. A endo- β -(1,4)-glucanase (EC 3.2.1.6) apresenta temperatura ótima na mostura entre 40 e 45 °C e desnaturação entre 50 e 55 °C. A maior eficiência da ação conjunta se dá em torno de 45 °C. Ambas apresentam pH ótimo na mostura próximo de 4,6 (entre 4,5 e 5,5). A ação dessas enzimas é importante em maltes pouco modificados e com maior quantidade de β -glucanos.

Esterase do ácido ferúlico/ Feruloil esterase

Figura 13 – Estrutura 1USW

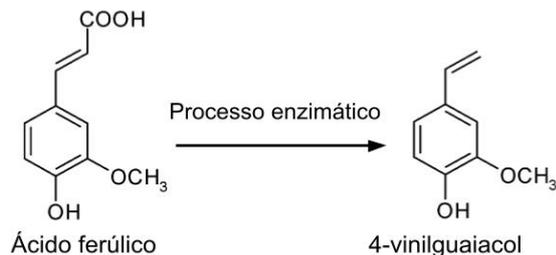


Fonte: Disponível em: <https://www.rcsb.org/structure/1USW>

Esta enzima também é chamada de feruloil esterase (Figura 13) - hidrolase (EC: 3.2.1.73, PDB: 1USW). Hidrolisa ésteres carboxílicos e libera ácido ferúlico (precursor do aroma de cravo) e outros ácidos cinâmicos ligados aos polissacarídeos presentes na parede de células vegetais (como hemicelulose), como dos maltes de cevada e, especialmente, trigo. Posteriormente, na fermentação, as leveduras (principalmente de cepas fenólicas) converterão o ácido ferúlico em 4-vinil-guaiacol (Figura 14), resultando no aroma de cravo, característico de cervejas de trigo, como dos estilos *Weizen*, *Witbier* etc.

Apresenta temperatura ótima na mostura entre 43 e 45 °C e pH ótimo na mostura entre 5,7 e 5,8.

Figura 14 – Sequência de maltes por coloração



Fonte: O autor a partir de BRIGGS *et al.* (2004).

Proteases

Conjunto de enzimas que hidrolisam ligações peptídicas de cadeias oligopeptídicas e polipeptídicas/proteínas (EC: 3.4). Podem ser divididas em endoproteases (hidrolisam ligações peptídicas no interior da molécula) ou exopeptidases (hidrolisam ligações peptídicas a partir das extremidades da molécula, pelo terminal carboxi ou pelo termina amino). Ressalta-se que algumas proteases têm atividade de exo e endoenzima. Quanto sua ação catalítica, podem ser classificadas como: aspártico-proteases; asparagino-proteases; cisteíno-proteases; glutâmico-proteases; metalo-proteases; serino-proteases, treonino-proteases; P-proteases (mistas); U-proteases (desconhecidas).

As principais enzimas atuantes na mostura são tiol-dependentes (pH ótimo entre 3,0 e 6,5), sendo que a ação destas corresponde a 90% da atividade proteolítica durante a parada proteica na mosturação. Grande parte da ação remanescente se dá por metalo-proteases (pH ótimo entre 5,0 e 8,5). Destaca-se que também se encontram atuantes serino-proteases e aspartato-proteases. Conjuntamente às proteases que tem a importante ação das carboxipeptidases.

No geral, apresentam temperatura ótima entre 50 e 60 °C (geralmente 52 °C) e pH ótimo na mostura entre 3 e 6,5.

Proteases – Exopeptidases

Conjunto de exoenzimas que atuam nas extremidades de cadeias oligopeptídicas e polipeptídicas/proteínas, podendo atuar sobre o C-terminal (carboxipeptidases) ou N-terminal (aminopeptidases), resultando na liberação de aminoácidos e dipeptídeos (Figura 15). Contribuem para o aumento de Amino Nitrogênio Livre (*FAN – Free Amino nitrogen*).

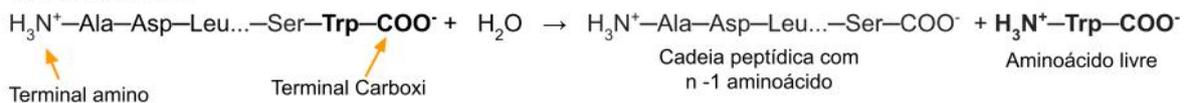
Carboxipeptidases: Pelo menos quatro enzimas apresentam temperatura ótima próxima de 50 °C e pH ótimo na mostura entre 4,8 e 5,7.

Aminopeptidases: Quatro a cinco enzimas. De modo geral, apresentam temperatura ótima próxima de 45 °C e pH ótimo na mostura entre 5,5 e 7,3^o.

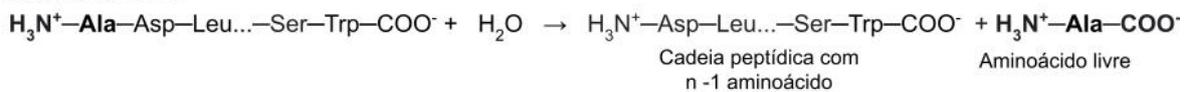
Dipeptidases: Atuam sobre dipeptídeos liberando aminoácidos. De modo geral, apresentam temperatura ótima próxima de 45 °C e pH ótimo na mostura entre 8,2 e 8,8 (distante do pH alvo da mostura).

Figura 15 – Síntese das reações das exopeptidases

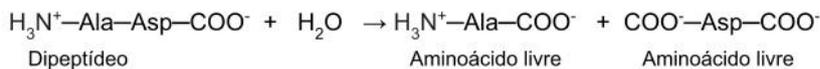
Carboxipeptidase



Aminopeptidase



Dipeptidase



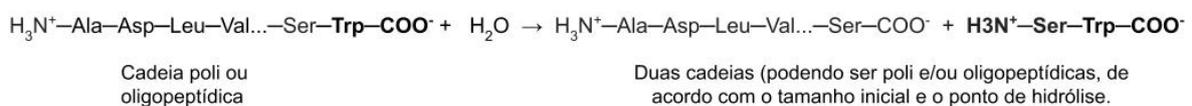
Fonte: O autor a partir de BRIGGS *et al.*, 2004.

Proteases – Endopeptidases

Cerca de 42 endoenzimas que atuam em ligações peptídicas no interior de cadeias oligopeptídicas e polipeptídicas/proteínas (Figura 16), assim, não contribuem diretamente para o aumento do Amino Nitrogênio Livre (*FAN – Free Amino nitrogen*).

Apresentam temperatura ótima próxima de 45 e 50 °C e pH ótimo na mostura entre 3,9 e 5,5. Junto às proteases, representam as principais enzimas proteolíticas (90% da ação para as proteases). Há endopeptidases que podem atuar até entre 60 e 80 °C.

Figura 16 – Síntese das reações das endopeptidases

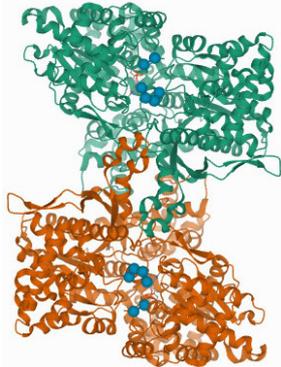


Fonte: O autor a partir de BRIGGS *et al.*, 2004.

9 Há autores que consideram o pH entre 7 e 8 (NARZIß *et al.*, 2005)

Fosforilases (Amido fosforilase)

Também chamada de fosforilase do amido (EC: 2.4.1.1, PDB: 5LRA) ou amilofosforilase (Figura 17), é uma exoenzima presente no mosto cervejeiro que contribui com a degradação do amido presente nos maltes. Atua na clivagem de glicoses terminais das cadeias (ligações α -1,4), até o ponto de ramificação (similar a β -amilase) envolvendo a transferência de um fosfato inorgânico (Figura 18).

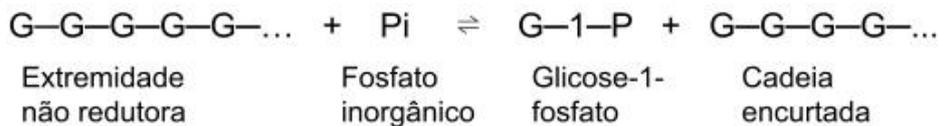


Fonte: Disponível em:

<https://www.rcsb.org/structure/5LRA>

agindo de forma similar a α -glicosidase. Apresenta temperatura ótima na mostura em torno de 50 °C e pH ótimo em torno de 5,0.

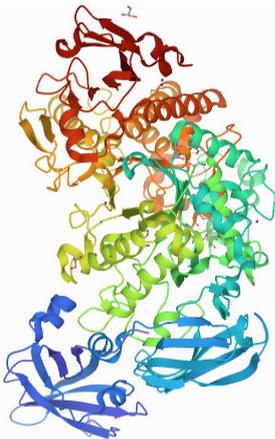
Figura 18 – Esquema sintético da reação da fosforilase



Fonte: O autor a partir de BRIGGS *et al.*, 2004.

Limite-dextrinase/ R-Enzima

Figura 19 – Estrutura 4AIO



Fonte: Disponível em:

<https://www.rcsb.org/structure/4AIO>

Esta é uma das enzimas amilolíticas que degradam o amido (Figura 19), uma hidrolase também conhecida como amilopectina-1,6-glicosidase (EC: 3.2.1.142; PDB: 4AIO) ou dextrinase-limite. Hidrolisam as ligações α -1,6 (Figura 20), ou seja, nas ramificações das cadeias da amilopectina (componente do amido). Sua síntese ocorre de forma tardia, durante a etapa de germinação no processo de malteação dos cereais.

Dependendo da cadeia restante, após a hidrólise da ligação α -1,6, poderão liberar maltose, maltotriose ou cadeias maiores. Destaca-se que a ação conjunta da Limite-dextrinase com a β -amilase resultará em cerca de 80% dos açúcares fermentescíveis. Tem temperatura ótima na mostura entre 55 e 60 °C, sendo sensível a temperaturas maiores (inativada em torno de 65 °C) e pH ótimo entre 5,1 e 5,2.

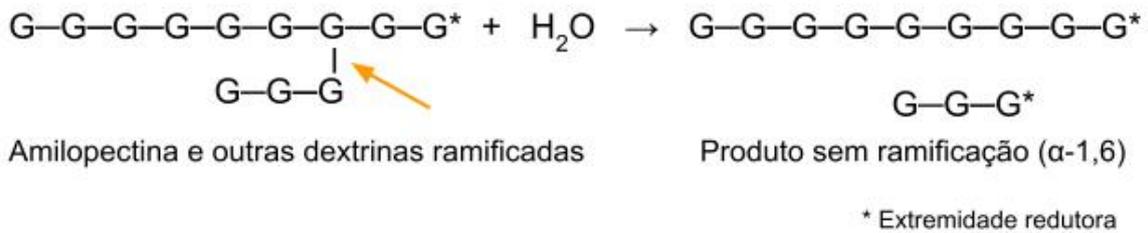
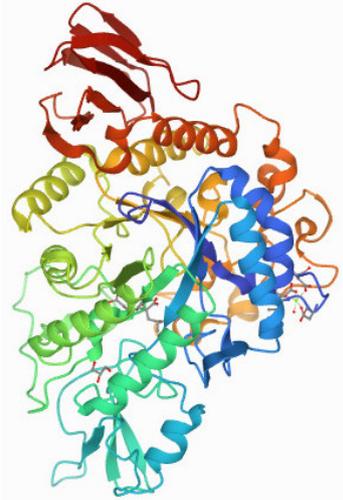


Figura 20 – Esquema sintético da reação da Limite-dextrinase/ R-Enzima
 Fonte: O autor a partir de BRIGGS et al., 2004.

α -Glicosidase/Maltase

Figura 21 – Estrutura 3WY1



Fonte: Disponível em:
<https://www.rcsb.org/structure/3WY1>

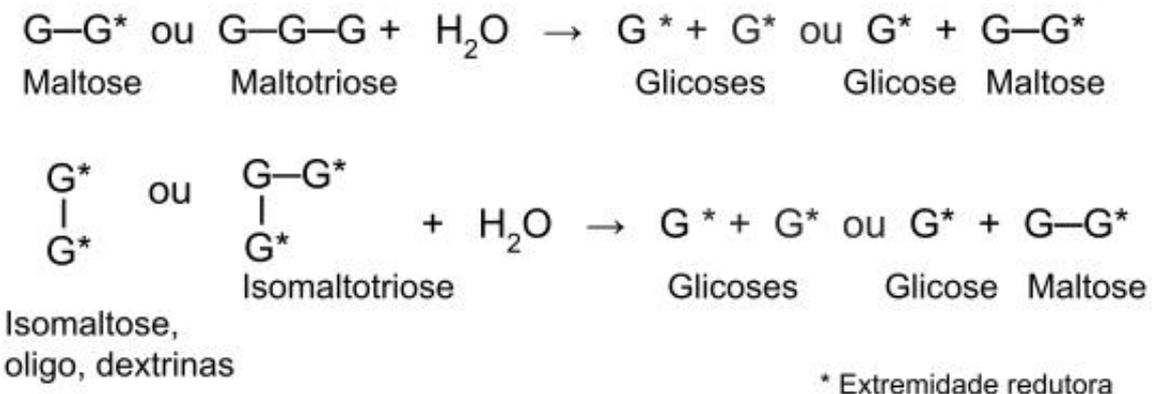
A maltase (Figura 21) é uma das enzimas amilolíticas (degradam o amido), uma hidrolase (EC: 3.2.1.20; PDB: 3WY1). Sua concentração nos grãos de cereais aumenta durante a etapa de germinação do processo de malteação (produção dos maltes).

Hidrolisa preferencialmente as ligações α -1,4 das moléculas de maltose, maltotriose e seus isômeros e, mais lentamente, a ligação α -1,6 destas mesmas moléculas (Figura 22).

Pode também hidrolisar essas ligações em carboidratos maiores (oligossacarídeos, dextrinas e amido), a partir de suas extremidades não redutoras.

Destaca-se que esta enzima age de forma sinérgica com a α -amilase e contribui com a formação de açúcares fermentescíveis. Apresenta temperatura ótima na mostura entre 40 e 45 °C e pH ótimo em torno de 4,6.

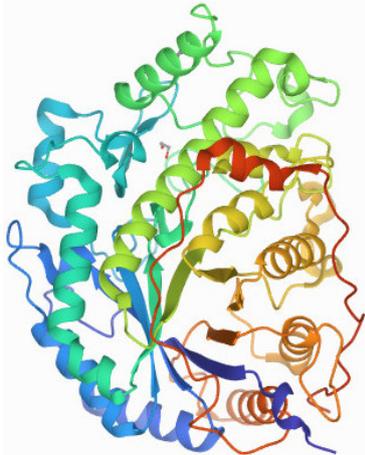
Figura 22 – Esquema sintético da reação da α -glicosidase/maltase



Fonte: O autor a partir de BRIGGS et al., 2004.

β-amilase

Figura 23 – Estrutura 2XFR



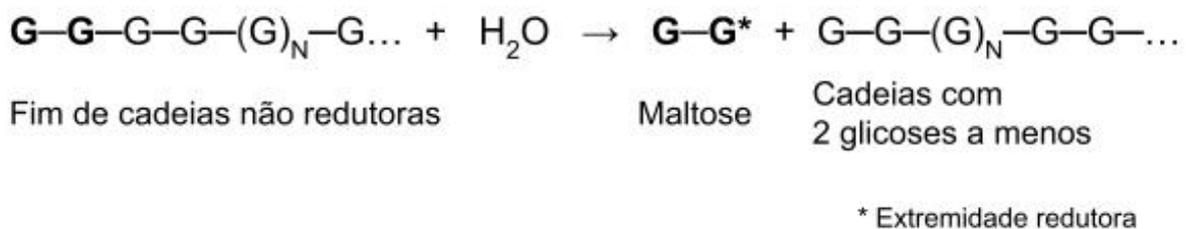
Fonte: Disponível em:
<https://www.rcsb.org/structure/2XFR>

Esta é uma das principais enzimas (EC: 3.2.1.2; PDB: 2XFR) atuantes na degradação do amido na mosturação (Figura 23), contribuindo significativamente na produção de açúcares fermentescíveis. Há estudos que indicam três isoformas (pelo menos), entretanto, ainda não há consenso sobre a nomenclatura (de acordo com a termoestabilidade: Sd1, intermediária; Sd2L, baixa; Sd2H alta).

Somente a ação da β-amilase poderia gerar até 70% carboidratos fermentescíveis. A ação em conjunto com enzimas desramificadoras (ex. limite-dextrinase) permitiria a sacarificação com a geração de cerca de 80% de açúcares fermentescíveis. A ação da β-amilase pode contribuir com a redução do corpo da bebida e aumento do teor alcoólico (maior produção de açúcares fermentescíveis).

Atua sobre as ligações α-1,4 no fim de cadeias poli/oligossacarídicas (exoenzima) (Figura 24), entretanto, não tem ação sobre a última ligação anterior a ramificação da cadeia α-1,6. Apresenta temperatura ótima na mostura entre 60 e 65 °C, com pH ótimo entre 5,4 e 5,6 (pH medido no mosto resfriado), desnaturando em temperatura acima de 68 °C.

Figura 24 – Esquema sintético da reação da β-amilase



Fonte: O autor a partir de BRIGGS *et al.*, 2004.

Durante a malteação há muito pouca formação de novas enzimas, entretanto, ocorre remoção do c-terminal, o que aumenta a termoestabilidade da enzima, assim como a afinidade pelo amido. Destaca-se que a proporção da porção solúvel desta enzima aumenta durante a mosturação, sendo que pode se apresentar ligada a proteína Z por pontes dissulfeto (dímero).

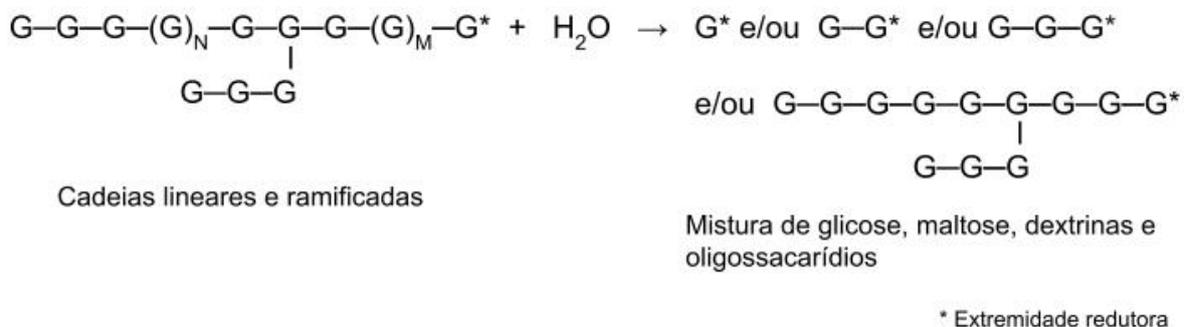
Comparativamente a α-amilase (também de grande importância amilolítica), apresenta maior sensibilidade ao calor, diferindo em cada variedade de cevada, além disso, apresenta resistência média para acidez na mostura e agentes quelantes.

α -amilase

Conjunto de três isoformas presentes na mostura: α -amilase I (PDB: 1HT6); α -amilase II (PDB: 1AMY); e α -amilase III (complexo α -amilase II-BASI/PDB: 1AVA), sendo que sua formação ocorre prioritariamente durante a etapa de germinação da malteação. Destaca-se que o completo BASI (*barley α -amylase/ subtilisin inhibitor* – inibidor de amilase / subtilisina de cevada) se liga somente à α -amilase II. Em conjunto com a β -amilase, constituem as enzimas mais importantes para degradação do amido e para formação dos açúcares fermentescíveis e não fermentescíveis.

É uma endoenzima da classe hidrolase (EC 3.2.1.1) que atua sobre as ligações α -1,4 entre as glicoses (Figura 25), comumente no meio da cadeia, próximo às ramificações, podendo gerar glicose, maltose e dextrinas. A hidrólise no fim da cadeia é lenta e cessa próximo as ramificações. Comparativamente a velocidade de reação da β -amilase, apresenta-se mais lenta. De toda forma, por hidrolisar o interior da cadeia, rapidamente degrada o amido (importante para liquefação), alterando-se rapidamente a coloração com o teste do iodo com a mostura. A ação isolada da α -amilase pode gerar cerca de 20% de carboidratos fermentescíveis, sendo que a maior fermentabilidade (65 °C) é atingida com a ação combinada da α -amilase II com a β -amilase.

Figura 25 – Esquema sintético da reação da α -amilase



Fonte: O autor a partir de BRIGGS *et al.*, 2004.

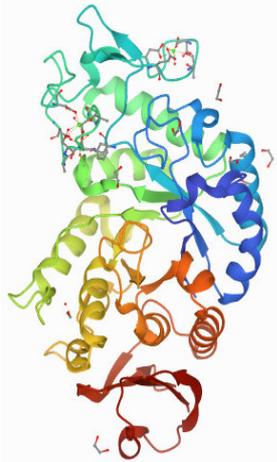
Destaca-se que a α -amilase apresenta interação com cálcio iônico, o que contribui para melhorar a ação catalítica da enzima. A interação com o cálcio ocorre com os grupos R de resíduos de alguns aminoácidos (alanina, asparagina, aspartato e glicina) da cadeia polipeptídica (ASN91; GLY183; ALA141; ASP138; ASP148).

No contexto cervejeiro, geralmente, fala-se apenas em α -amilase, referindo-se à α -amilase II por esta ser mais representativa na mostura, sendo que a ação da α -amilase pode contribuir com a formação do corpo da bebida (açúcares residuais – não fermentescíveis¹⁰).

¹⁰ Para muitas das leveduras cervejeiras, consideram-se não fermentescíveis os carboidratos acima de três resíduos de glicose, ou seja, maltotetraose e maiores. No geral, consideram-se fermentescíveis a glicose, frutose, sacarose, maltose e maltotriose.

α -amilase I

Figura 26 – Estrutura 1HT6

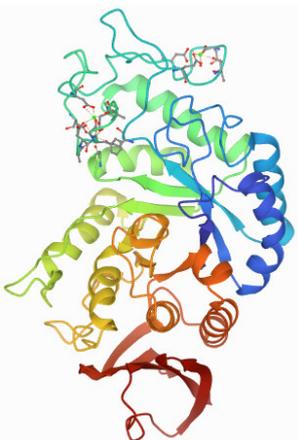


Fonte: Disponível em:
<https://www.rcsb.org/structure/1HT6>

Esta isoforma (Figura 26) ocorre em pequenas quantidades, sendo resistente a agentes quelantes e pHs ácidos por sua forte ligação com o cálcio iônico (Ca^{2+}). Pode ser inibida por pequenas quantidades de íons metálicos, com cobre. Apresenta atividade ótima na mostura em torno de 70 °C e pH ótimo entre 3,0 e 5,5. Seu pI (4,7 a 5,2) difere da α -amilase II (pI: 5,9 – 6,1).

α -amilase II

Figura 27 – Estrutura 1AMY



Fonte: Disponível em:
<https://www.rcsb.org/structure/1AMY>

Esta é a isoforma (Figura 27) mais típica da α -amilase no malte e atuante na mosturação, sendo mais resistente ao calor, principalmente pela interação com o cálcio iônico (Ca^{2+}). Pode ser inibida por agentes quelantes de ligação de cálcio, como o ácido fítico. Tem temperatura ótima na mostura em torno de 70 °C, é inativada em torno de 78 °C e desnaturada a partir de 80 °C. Apresenta pH ótimo na mostura entre 5,6 e 5,8. Representa de 80 a 98% das α -amilases presentes no malte verde.

α -amilase III

Figura 28 – Estrutura 1AVA



Fonte: Disponível em:
<https://www.rcsb.org/structure/1AVA>

Esta isoforma (Figura 28) corresponde ao complexo formado entre α -amilase II e a BASI (*barley α -amylase/subtilisin inhibitor* – inibidor de amilase / subtilisina de cevada). A BASI, da família das subtilisinas, limita a atividade da α -amilase II e serina proteases por inibi-las. Acredita-se que o complexo é provavelmente rompido na temperatura de conversão/sacarificação do amido.

5 Fatores de influência da atividade enzimática na mostura

As enzimas, em sua maioria cadeias polipeptídicas, têm sua atividade influenciada por diversos fatores, como temperatura, pH, pressão hidrostática, presença de solventes orgânicos etc. A influência do pH e da temperatura se destacam durante o processo de mosturação, sendo que estes interferem na estrutura da enzima, impactando na conformação do sítio ativo (local onde ocorre a interação do substrato com a enzima para que a reação ocorra).

Destaca-se que a influência da temperatura e pH é variável em cada enzima e em cada condição, dessa forma, cada enzima terá uma faixa de temperatura e pH na qual sua atividade será ótima. As condições variadas na mostura, como presença de diversas moléculas no mosto que poderão interagir com a enzima, poderão resultar na alteração da estrutura da enzima também, com resultados diversos, como maior resistência a temperatura ou pH, maior ou menor atividade catalítica etc. Esses fatores devem ser estudados para se adequar a mosturação de acordo com os objetivos que se tem para o produto final, por exemplo, uma bebida com mais ou menos corpo, maior ou menor teor alcoólico etc.

O procedimento mais comum para a mosturação consiste na programação de rampas de temperatura, ou seja, planejar uma sequência de períodos em determinadas temperaturas, visando ação maior ou menor de cada enzima envolvida. Da mesma forma, preocupa-se com o pH alvo da mostura, o qual deve propiciar a atividade adequada para as enzimas que se pretende ter maior ação.

Em suma, quanto mais próximo da temperatura e pH para atividade ótima da enzima, maior será a velocidade da reação (produto gerado/tempo). Dessa forma, o controle rigoroso da temperatura e do pH da mostura durante a mosturação, assim como dos sais presentes na água e demais condições da mostura, serão vitais para o funcionamento das enzimas e para produção do mosto.



Facilitando o entendimento

1) Nesta aula sobre enzimas, você poderá aprender os conceitos básicos da cinética enzimática, destacando a influência do pH e da temperatura na atividade enzimática:

<https://youtu.be/kTgDYPRA-BE>

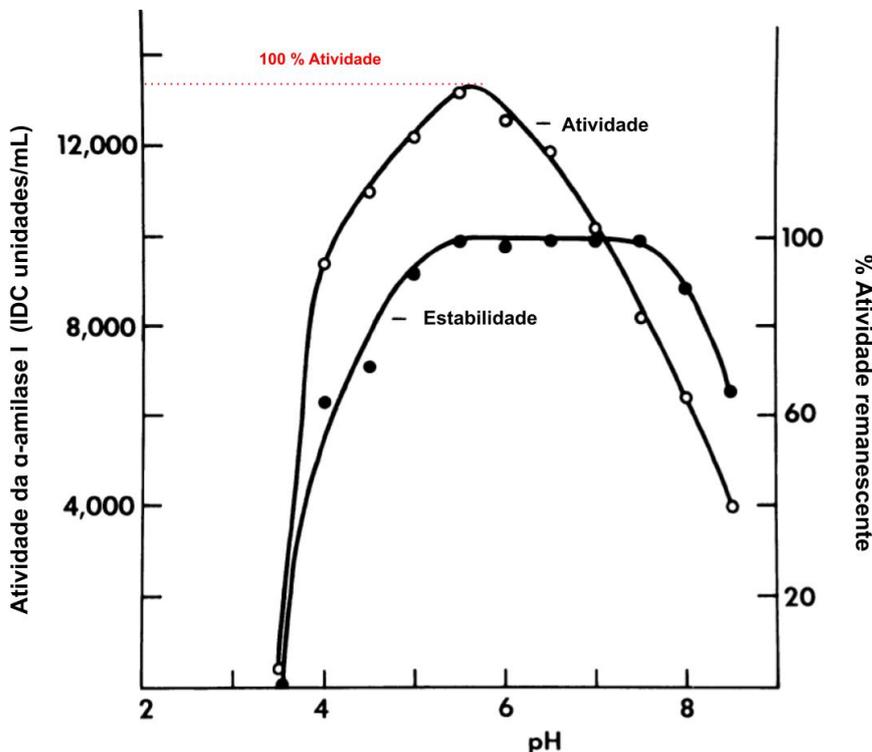
5.1 pH

Uma vez que as enzimas são cadeias polipeptídicas, estas se constituem de resíduos de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, sendo que, muitos dos grupos R de aminoácidos são ionizáveis (aminoácidos polares), ou seja, podem perder ou receber H^+ , alterando a carga do mesmo. As alterações de cargas ao longo da cadeia impactam nas interações estruturais, resultando em mudanças na estrutura tridimensional (quanto maior as alterações de cargas, maior o impacto na estrutura).

Dessa forma, a enzima apresentará uma conformação diferente em cada valor de pH, sendo que cada enzima apresenta um pH no qual sua estrutura favorece a interação do substrato com o sítio ativo, viabilizando a formação do complexo enzima-substrato (ES) e, posteriormente, a ação catalítica de cada enzima. Valores de pH acima ou abaixo do valor ótimo resultaram em menor atividade enzimática, ou seja, menor velocidade de reação. Quanto maior a diferença entre o pH ótimo e o pH do meio, menor a atividade da enzima, podendo esta chegar a não ter atividade pelo fato da enzima sofrer desnaturação¹¹.

Exemplifica-se na Figura 29 a atividade (em unidades IDC – *Iodine Dextrin Color*) e estabilidade (porcentagem da atividade original remanescente após 1 hora em cada pH) da enzima α -amilase I, em diferentes pHs (pH ótimo em torno de 5,5).

Figura 29 – Efeito do pH na atividade e estabilidade da α -amilase I



Fonte: Traduzido e adaptado de MacGREGOR, 1978.

¹¹ A maior parte das enzimas podem ser renaturadas quando o pH é restabelecido, salvo quando expostas em meios com valores extremos de pH.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Destaca-se que os dados obtidos no experimento (Figura 29) são para reação enzimática em condições controladas, com enzima purificada e amilose, pois nas condições de mostura esses valores serão diferentes. A maior parte das enzimas presentes na mosturação atuam entre 4,8 e 5,8, sendo que, de acordo com os objetivos da mostura, deve-se avaliar as enzimas que atuarão para ajustar o pH da mostura. Geralmente se trabalha com a mostura na faixa de 5,2 a 5,4 (mosto quente).

Destaca-se que, ao realizar a mensuração do pH da mostura, deve-se fazer a correção a partir da temperatura da mostura. Quanto mais quente, menor será a medida mensurada (Tabela 3). Por exemplo, a mesma mostura, realizada com água destilada, apresenta pH 5,84 em 18 °C e pH 5,40 em 78 °C. Há peagômetros que possuem um sensor de temperatura, além do eletrodo para medir o pH, dessa forma, o próprio aparelho faz a correção. Entretanto, usando medidores comuns, sem a compensação da temperatura, deve-se atentar para essa diferença.

Tabela 3 – Efeito da temperatura no valor do pH em duas mosturas

Temperatura	Valores de pH na mostura	
	Água destilada	Água com carbonatos*
18 °C	5,84	6,03
35 °C	5,70	5,90
52 °C	5,65	5,80
65 °C	5,50	5,70
78 °C	5,40	5,55
≠ 18 à 78 °C	0,44	0,48

Fonte: Traduzido e adaptado de BRIGGS *et al.* (2004).

* Água levemente carbonatada – presença de carbonatos.

Para se alterar o pH da mostura se utilizam sais com pureza alimentar, sendo autorizados pela Anvisa os reagentes com pureza FAO-OMS (*Food and Agriculture Organization* – Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura) na preparação das bebidas, incluindo cerveja. O uso de reagentes com outros graus de pureza podem representar riscos para saúde (fique atento à legislação vigente).

Quando o pH da mostura está muito acima ou abaixo da faixa de 5,2 a 5,5, pode-se acidificar ou alcalinizar o meio, usando, por exemplo:

- Redução do pH:
 - Ácido cítrico – ácido triprótico;
 - Ácido láctico – ácido monoprótico;
 - Ácido fosfórico – ácido triprótico (cuidado durante o uso).

- Aumento do pH:
 - Bicarbonato de sódio – rápida dissolução;
 - Carbonato de Cálcio – pouco utilizado;
 - NaOH e KOH (cuidado durante o uso).

5.2 Temperatura

A temperatura influencia diretamente na estrutura tridimensional das enzimas, uma vez que afetam as ligações de hidrogênio e as interações eletrostáticas, além disso, o aumento da temperatura gera maior estabilidade nas interações hidrofóbicas. O aumento da temperatura impactará também na entropia conformacional, aumentando a desorganização das moléculas.

Com isso, toda enzima apresenta uma temperatura na qual apresenta conformação estrutural ideal para favorecer (aumentar a probabilidade) a ligação do substrato com o sítio ativo e a formação do complexo enzima-substrato (ES). Temperaturas acima ou abaixo da ótima resultam em menor atividade enzimática e, conseqüentemente, menor velocidade de reação. Temperaturas distantes da ótima podem alterar significativamente a estrutura, podendo resultar em desnaturação ou dissociação reversíveis da enzima. No caso de temperaturas muito elevadas, as alterações que geram a desnaturação tendem a ser mais drásticas e irreversíveis.

Destaca-se que cada enzima (ou isoenzimas) apresenta diferentes estabilidades térmicas, sendo que a sequência dos aminoácidos e os tipos de aminoácidos impactarão diretamente nesta. Por exemplo, maiores quantidades de aminoácidos hidrofóbicos podem resultar em maior estabilidade térmica. Além disso, outros tipos de associações podem resultar em maior estabilidade térmica da enzima, como a interação da α -amilase com o cálcio iônico.

Apresenta-se na Figura 30 os resultados do experimento para avaliação da atividade da α -amilase I¹² (em unidades IDC – *Iodine Dextrin Color*¹³) e estabilidade¹⁴. Destaca-se que os dados obtidos no experimento indicado na Figura 30 são para reação enzimática em condições controladas, com enzima purificada na presença de amilose, pois na mostura esses valores diferem significativamente, principalmente pela presença do cálcio iônico no meio, aumentando a termoestabilidade.

Quando se planejar uma rampa¹⁵ de temperaturas para mosturação, deve-se atentar ao que se espera do produto final da mostura para escolher quais temperaturas e o

12 Há três isoenzimas para α -amilase no malte de cevada.

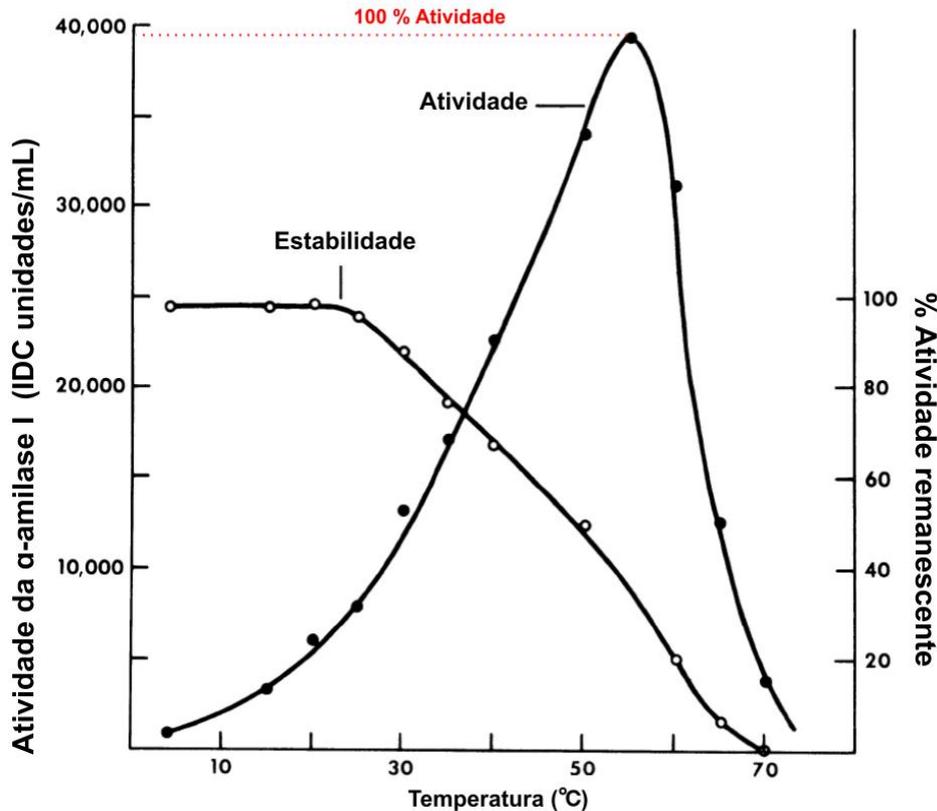
13 Cor da reação do iodo com dextrinas.

14 Porcentagem da atividade original em 35 °C após 1 hora incubada em cada temperatura

15 Conjunto de períodos de tempo em determinadas temperaturas para ação de enzimas específicas durante a mosturação.

tempo em cada uma destas, tendo em vistas as temperaturas ótimas das enzimas desejadas para se ter maior ou menor atividade ou mesmo não ter atividade de alguma/s enzima/s.

Figura 30 – Efeito da temperatura na atividade e estabilidade da α -amilase I



Fonte: Traduzido e adaptado de MacGREGOR, 1978.

Há algumas paradas¹⁶ clássicas durante a mosturação, que serão melhores apresentadas no tópico “Atuação das enzimas na mosturação”, as quais atuam sobre diferentes substratos, como β -glucano, amido, carboidratos menores, proteínas etc., sendo que, no geral, tratam-se de enzimas da classe hidrolase.

Seguem as principais paradas em ordem crescente de temperatura:

- Parada do β -glucano: ≈ 45 °C – degradação dos β -glucanos;
- Parada ácida: ≈ 45 °C – liberação de ácido ferúlico;
- Parada proteica: ≈ 52 °C – hidrólise de proteínas;
- Parada da β -amilase: ≈ 62 °C – hidrólise do amido com maior formação de açúcares fermentescíveis;
- Parada da α -amilase: ≈ 72 °C – hidrólise do amido com menor formação de açúcares fermentescíveis;
- Inativação (*mash-out*): ≈ 78 °C – inativação das enzimas para manutenção do perfil do mosto durante as fases seguintes.

¹⁶ Correspondem as rampas de temperatura da mostura, ou seja, as temperaturas-alvo que a mostura é mantida por determinado tempo para se alcançar o resultado pretendido no mosto.

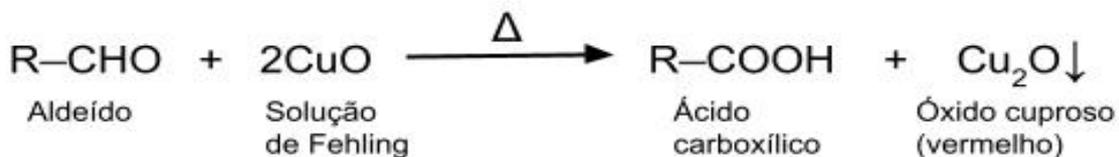
6 Poder diastático

Um dos importantes termos quando se aborda a mosturação é o poder diastático, que se refere a capacidade das enzimas presentes na mostura envolvidas na degradação do amido, sendo estas enzimas oriundas dos maltes.

Esse conjunto de enzimas degradam (hidrolisam) o amido (amilose e amilopectina) em açúcares fermentescíveis que serão utilizados posteriormente na fermentação pelos microrganismos, além de dextrinas menores que não são utilizadas na fermentação e compõe o corpo da cerveja. Dentre as enzimas que contribuem para o poder diastático se destacam a β -amilase, a α -amilase II e a limite-dextrinase.

Para se avaliar o poder diastático, pode-se realizar uma mini-mosturação controlada, reagindo-se o produto final com a solução de Fehling, a qual reage com açúcares redutores (Figura 31) – nesse caso, glicose e maltose –, formando o precipitado de óxido cuproso. Quanto maior a formação do precipitado, maior foi a ação enzimática, ou seja, maior concentração de açúcares redutores.

Figura 31 – Reação de Fehling para verificação de presença de açúcares redutores



Fonte: O autor, a partir de Silva *et al.* (2003).

Como reação controlada para avaliação do poder diastático, incuba-se uma infusão de malte 5% (0,1 mL) com 100 mL de solução de amido 2% em temperatura de 20 °C, por uma hora. Quando o produto desta reação for capaz de reduzir totalmente 5 mL de solução de Fehling, tem-se o poder diastático de 100 °L, ou seja, atividade catalítica de $3,014 \times 10^{-7}$ katal¹⁷ /18,08 UI¹⁸.

6.1 Estrutura e degradação do amido

Faz-se importante compreender a estrutura do amido, presente no endosperma dos grãos maltes e outros adjuntos, para se compreender a ação das enzimas que resultam no poder diastático, com a consequente degradação do amido.

O amido é constituído por duas estruturas distintas, a amilose e a amilopectina (Figura 32), compostas por moléculas de glicose, unidas por ligações glicosídicas, sendo

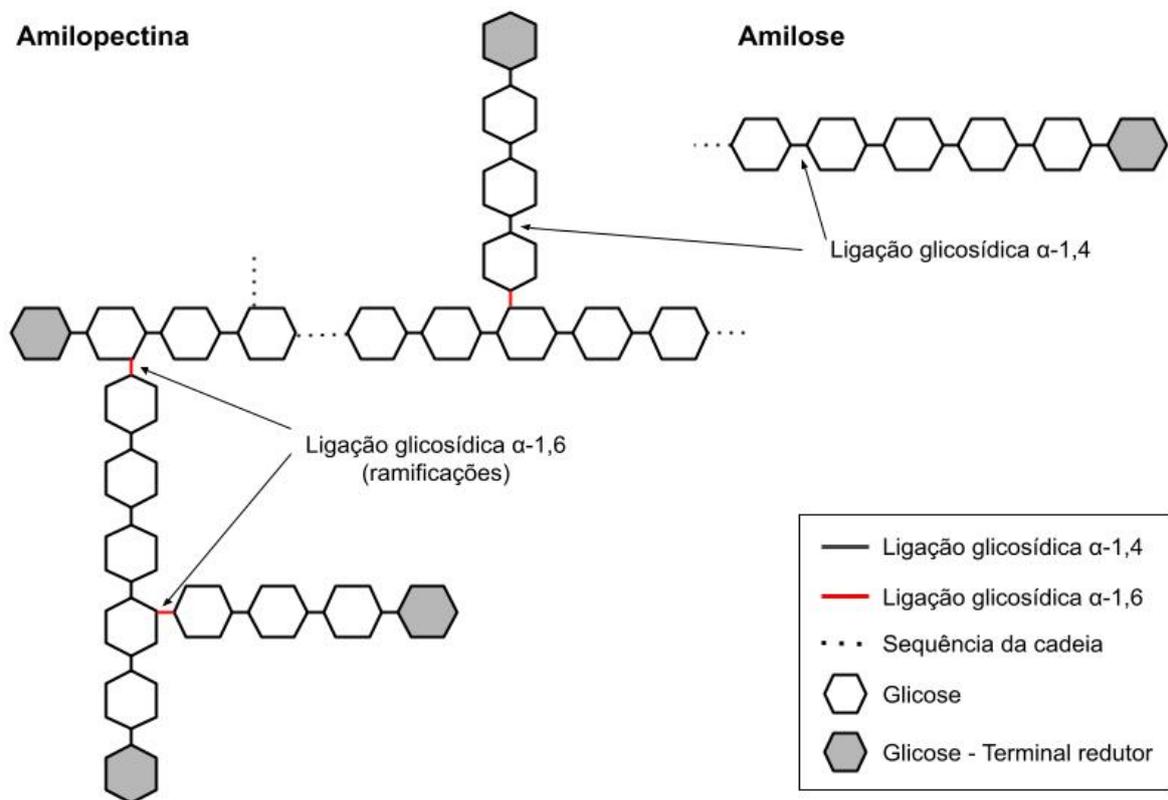
¹⁷ Unidade do sistema internacional (SI) para atividade catalítica (mols/s).

¹⁸ Unidade Internacional para atividade catalítica de enzimas ($\mu\text{mol}/\text{min}$).

que os percentuais de amilose e amilopectina variam conforme a espécie e a variedade do cereal.

- **Amilose:** Cadeia linear de glicoses, unidas por ligações glicosídicas α -1,4 (não apresenta ramificações), tendendo a apresentar conformação helicoidal. Geralmente, correspondem entre 10 e 30% do amido, podendo apresentar entre 50 – 5.000 glicoses;
- **Amilopectina:** Cadeia ramificada de glicoses unidas por ligações glicosídicas α -1,4 e, nas ramificações, α -1,6. Geralmente, corresponde entre 70 e 90% da molécula de amido, podendo apresentar cerca de 10^6 glicoses.

Figura 32 – Esquema simplificado da estrutura da amilopectina e amilose



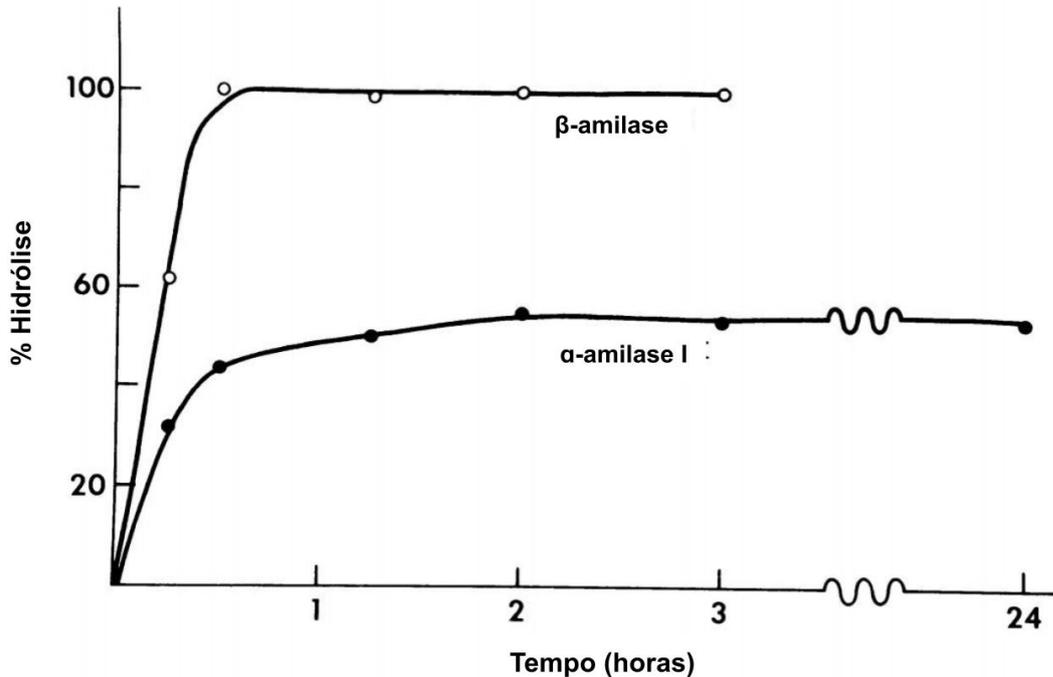
Fonte: O autor a partir de Marzzoco e Torre, 2015.

As moléculas de amilose e amilopectina são hidrolisadas pelo conjunto de enzimas que compõe o poder diastático do malte, sendo que algumas são exoenzimas (como a β -amilase) e outras endoenzimas (como a α -amilase).

Para se exemplificar a ação das enzimas na degradação do amido, apresenta-se na Figura 33 o resultado da hidrólise pelas enzimas. Isoladamente, β -amilase e α -amilase I (ambas enzimas atuam somente sobre ligação α -1,4). Ressalta-se que a hidrólise completa é atingida pela β -amilase, ressaltando que a amilose tem apenas ligações α -1,4, ou seja, sem ramificações, e esta enzima atua somente nesse tipo de ligação nas extremidades da cadeia.

Com relação a α -amilase I, tem-se um aumento significativo da hidrólise em até 30 min (45%) e, posteriormente, reduz-se significativamente, sendo que o máximo atingido foi de 55% de conversão em maltose.

Figura 33 – Hidrólise da amilose linear pela α -amilase I e β -amilase (resultados em percentagem de conversão da amilose em maltose aparente)

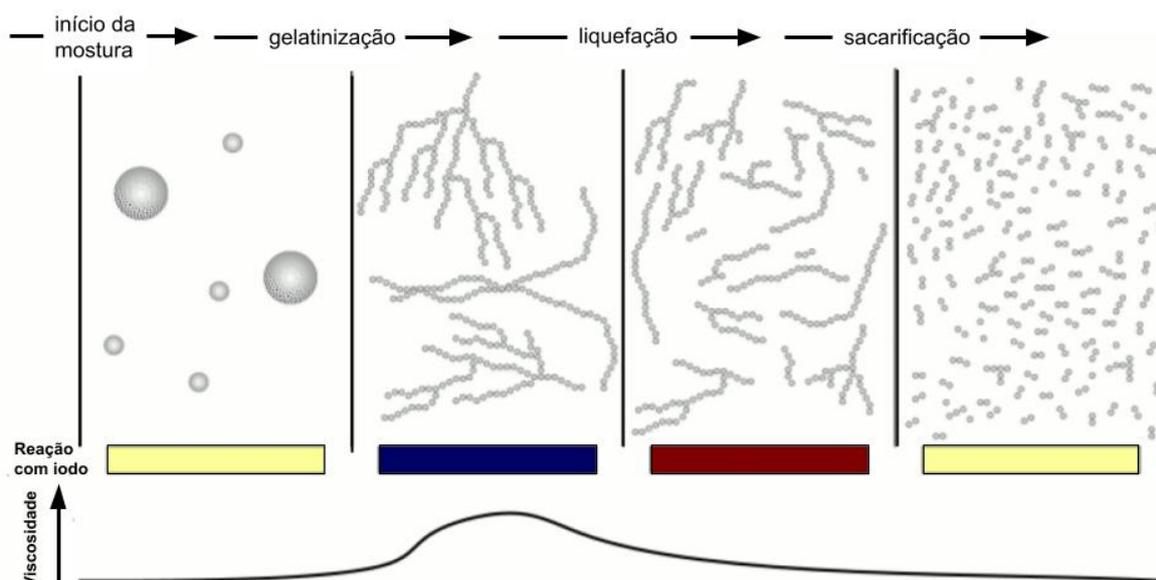


Fonte: Traduzido de MacGREGOR, 1978.

Com relação a degradação do amido durante a mosturação, esta passará por três fases principais (Figura 34):

- **Gelatinização:** o amido se apresenta praticamente insolúvel em água fria e a elevação à temperatura mais alta ($\approx 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ para cevada) propiciará a incorporação de água às moléculas do amido e a consequente liberação do mesmo dos grânulos de amido e a exposição das cadeias de amido na mostura (necessário para ação enzimática), aumentando a viscosidade do mosto (importante manter uma boa relação água:malte);
- **Liquefação:** corresponde a redução da viscosidade do mosto devido a redução no tamanho das cadeias do amido, principalmente pela ação da α -amilase, que hidrolisa as cadeias polissacarídicas grandes em cadeias menores (a liquefação facilitará a circulação do mosto);
- **Sacarificação:** continuidade na hidrólise das ligações glicosídicas da cadeia, α -1,4 e α -1,6 (ramificações), por meio de enzimas específicas (α -amilase, β -amilase, limite-dextrinase, maltase etc), com a completa degradação do amido (não reage mais com o iodo – coloração amarelada) e a consequente produção de açúcares fermentescíveis (glicose, frutose, sacarose, maltose, maltotriose) e não fermentescíveis (incluindo maltotetraose e dextrinas).

Figura 34 – Sequência de teste com iodo durante a hidrólise do amido na mosturação



Fonte: Traduzido de Braukaiser (2009). Disponível em: http://braukaiser.com/wiki/index.php/File:Stages_of_starch_conversion.gif

A temperatura de gelatinização (Tabela 4) dependerá de cada insumo, sendo que o uso de alguns adjuntos exigirá o cozimento prévio, como o arroz e o milho.

Tabela 4 – Temperaturas de gelatinização do amido de diversos grãos

Amido	Temperatura de gelatinização
Milho (grão)*	62 – 77 °C
Sorgo*	69 – 75 °C
Cevada	60 – 62 °C
Cevada, grânulos pequenos	51 – 92 °C
Cevada, grânulos largos	60 – 65 °C
Malte de cevada	64 – 67 °C
Trigo	52 – 66 °C
Centeio	49 – 61 °C
Aveia	52 – 64 °C
Arroz*	61 – 82 °C
Arroz, grão curto*	65 – 68 °C
Arroz, grão longo*	71 – 74 °C
Batata	56 – 71 °C
Tapioca	63 – 80 °C
Araruta (Maranta)	67 – 85 °C

Fonte: Traduzido e adaptado de Briggs *et al.* (2004)

* Caso se utilizem na mostura, devem ser cozidos anteriormente.

Destaca-se que grande parte das temperaturas de gelatinização estão na faixa de 63 a 69 °C, correspondendo a faixa de temperatura usada comumente na sacarificação do amido pelas enzimas presentes no mosto.

Deve-se ter atenção ao uso do arroz longo, uma vez que sua gelatinização se dá em temperaturas na qual muitas das enzimas amilolíticas não estão mais com atividade.

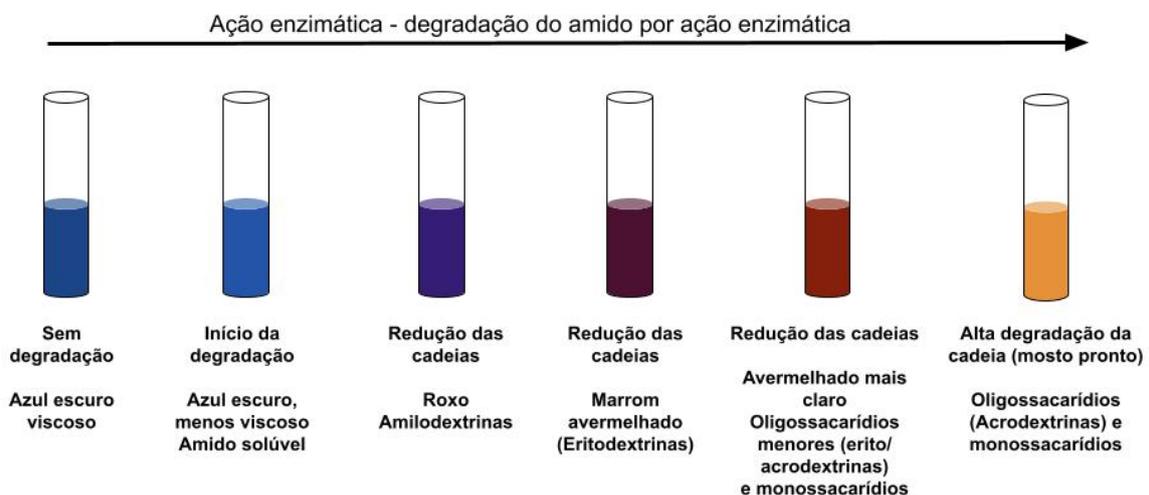
À medida que as enzimas atuam, têm-se as cadeias do amido (amilose e amilopectina) reduzidas a partir das hidrólises das ligações glicosídicas α -1,4 e α -1,6 (ramificações). De acordo com as temperaturas usadas na mosturação, obtém-se um mosto diferente com mais ou menos açúcares fermentescíveis (glicose, frutose, sacarose, maltose, maltotriose), assim como diferentes concentrações de maltotetraose e dextrinas que compõe o corpo da bebida (não fermentescíveis).

Para acompanhar a hidrólise do amido, realiza-se o teste do iodo, o qual consiste em retirar uma pequena amostra do mosto e gotejar uma solução contendo iodo (ex.: Lugol). O iodo interage com as cadeias de amilose e amilopectina, ou seja, quanto menor a integridade dessas moléculas, menor a interação (Figuras 35 e 36).

A interação do iodo com as moléculas de amilose resulta na coloração azul escura. Enquanto com a amilopectina resulta na coloração avermelhada. Quanto mais se degrada o amido, o tom azul se altera para roxo, até o ponto que há pouco amilose, destacando-se a cor avermelhada (interação com eritrodextrinas), até chegar na coloração amarela, indicando que não há moléculas com tamanho suficiente para interagir com o iodo.

Considera-se que a mosturação está completa, quando o teste com o Lugol indica a coloração amarela, ou seja, há somente oligossacarídeos (acrodextrinas) e monossacarídeos incapazes de interagir com o lugol.

Figura 35 – Sequência de teste com iodo durante a hidrólise do amido na mosturação



Fonte: O autor.

Figura 36 – Foto de sequência de testes da mostura com iodo durante a hidrólise do amido na mosturação

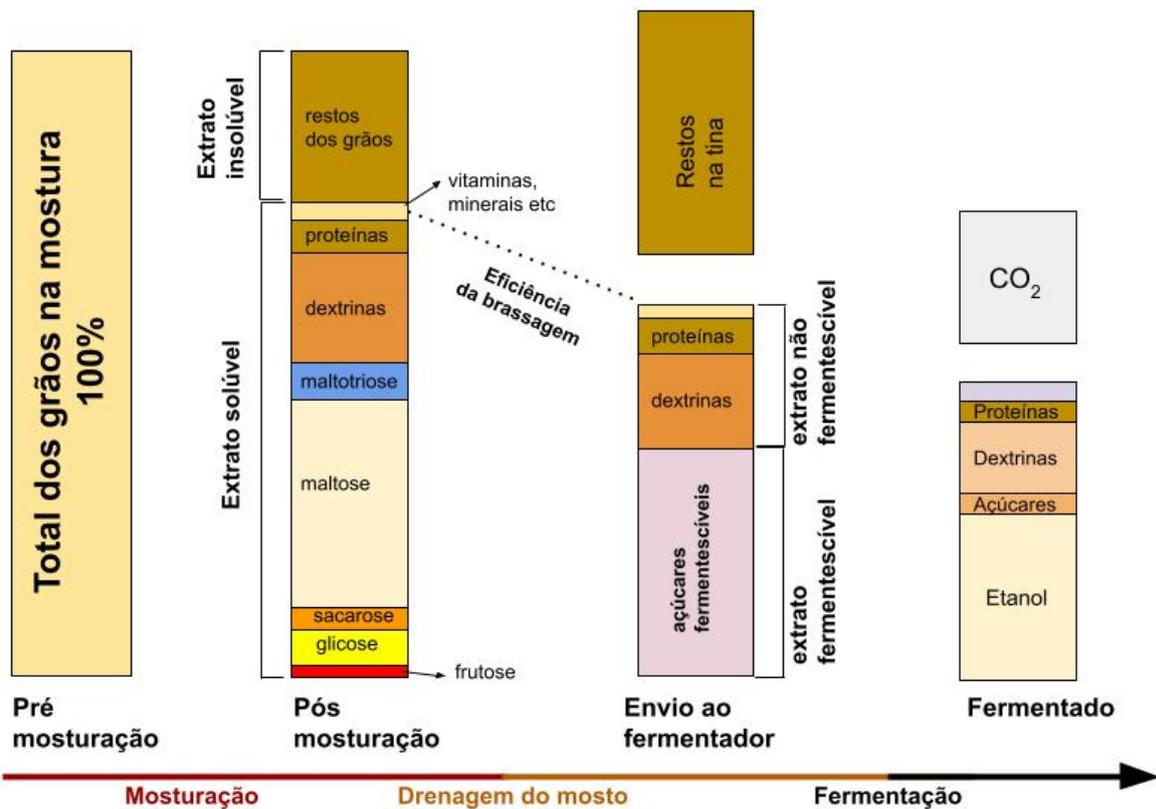


Fonte: O autor.

Ao fim da mosturação haverá uma mistura de açúcares fermentescíveis e não fermentescíveis (além de proteínas, vitaminas, sais minerais e outros compostos provenientes dos maltes, adjuntos, lúpulos etc), destacando as maiores concentrações de maltose, que é enviada para fermentação.

A relação entre o extrato fermentescível e o não fermentescível impactará no corpo e fermentabilidade da cerveja, ou seja, quando se aumenta o extrato fermentescível, espera-se maior concentração de etanol após a fermentação e, quando essa relação reduz um pouco, contribui-se mais com o corpo da bebida (Figura 37). Essa relação pode ser alterada trabalhando-se com diferentes temperaturas na mosturação, para que as diferentes enzimas atuem mais ou menos (ver o tópico atuação das enzimas na mosturação).

Figura 37 – Transformações na composição ao longo do processo cervejeiro



Fonte: Traduzido e adaptado a partir de <http://braukaiser.com/wiki/index.php/File:Wortcomposition.gif>.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Destaca-se que parte do produto da mosturação acaba por ficar nos restos na tina, uma vez que se realiza a lavagem, geralmente, até a gravidade específica de 1,010 g/L, ou seja, acaba-se por ter resíduos dos componentes do malte que não foram lavados (a lavagem excessiva dilui o mosto). Ainda assim, o percentual do extrato fermentescível é maior que o percentual de extrato não fermentescível.

Com relação ao resultado da mosturação, tem-se na Tabela 5 um exemplo geral das quantidades de carboidratos no mosto pré e pós mosturação, na qual se observa o elevado percentual de amido (85,5%) antes da mosturação, assim como baixa quantidade de açúcares fermentescíveis pelas leveduras do gênero *Saccharomyces* – glicose, frutose, maltose e maltotriose (9,15%).

Após a mosturação, identificando-se que esta se completou (teste do iodo com coloração amarela), tem-se a ausência do amido e um aumento significativo nos açúcares fermentescíveis (69,5%), sendo o maior percentual em maltose (41,1%), além da maltotriose – também fermentescível (14%).

Destaca-se também nos resultados da mosturação a presença de dextrinas (quase 10 vezes mais que na pré-mosturação), as quais contribuirão para o corpo da bebida, mas não serão consumidas durante a fermentação (exceto se envolver o uso de alguma espécie e/ou cepa de microrganismos específica com tal capacidade). Os percentuais na Tabela 5 poderão variar de acordo com os insumos utilizados (pré mosturação) e as rampas de temperatura utilizadas na mosturação (pós mosturação), gerando impacto no perfil sensorial da bebida.

Tabela 5 – Dados em percentual do total de sólidos pré e pós ação mosturação.

Carboidrato	Pré mosturação	Pós mosturação
Amido	85,8%	0
Dextrinas, glucanos e pentosanos	2,5%	22,2%
Frutanos	1,4%	?
Maltotetraose	-	6,1%
Maltotriose	0,6%	14%
Maltose	1%	41,1%
Sacarose	5,1%	5,5 %
Glicose	1,7% Glicose	8,9% Glicose e frutose
Frutose	0,75% Frutose	
Total	98,8%	97,8%

Fonte: Traduzido de Briggs *et al.*, 2004.

* Polissacarídeos não amídicos.

6.2 Cálculo do poder diastático

O poder diastático é expresso em graus Linter ($^{\circ}L$ ¹⁹) e cada malte apresentará seu poder diastático indicado pelo fabricante. Esses valores serão usados para calcular o poder diastático total na mostura. Utiliza-se também a unidade Windisch-Kolbach ($^{\circ}WK$), sendo que:

$$^{\circ}WK = (^{\circ}L \times 3,5) - 16$$

$$^{\circ}L = \frac{(^{\circ}WK + 16)}{3,5}$$

Sendo:

$^{\circ}WK$ = Poder diastático em graus Windisch-Kolbach

$^{\circ}L$ = Poder diastático em graus Lintner

O poder diastático da mostura é o resultado da somatória da multiplicação de cada malte por seu poder diastático, dividido pela massa total utilizada de malte (kg), conforme expresso na fórmula abaixo:

$$^{\circ}L_{batelada} = \frac{\left(\sum (^{\circ}L_{grão} \times Massa_{grão}) \right)}{(Massa_{total})}$$

Sendo:

$^{\circ}L_{batelada}$ = Poder diastático total em graus Lintner da batelada/lote

$^{\circ}L_{grão}$ = Poder diastático em graus Lintner de cada grão

$Massa_{grão}$ = massa de cada grão em quilos

$Massa_{total}$ = somatória das massas de todos grãos da mostura em quilos

Ao se elaborar a receita da cerveja, deve-se considerar o poder diastático de cada malte, como indicado na fórmula acima, recomendando-se que a somatória do poder diastático da mostura seja entre 30 a 40 $^{\circ}L$, pelo menos, para que se obtenha uma boa sacarificação, ou seja, a degradação completa do amido com formação dos açúcares fermentescíveis para fermentação.

No geral, os maltes claros apresentam maior poder diastático e, quanto mais escuro o malte (maior temperatura de tostagem), menor o poder diastático (maltes tostados 0 $^{\circ}L$, enquanto o Pilsner 100 a 160 $^{\circ}L$). Apresenta-se a seguir o poder diastático de alguns maltes comerciais:

¹⁹ Não confundir com graus Lovibond ($^{\circ}L$) usado para cor do malte e da cerveja.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

- *American Pale Malt* (2 fileiras): 140 °L
- *American Pale Malt* (6 fileiras): 160 °L
- *British Pale Malts*: 40-70 °L
- *Maris Otter Pale Malt*: 120 °L
- *Belgian Pale Malt* (2 fileiras): 60 °L
- *German Pilsner Malt*: 110 °L
- *Munich Malt* (10 SRM): 70 °L
- *Munich Malt* (20 SRM): 25 °L
- *Vienna Malt*: 50 °L
- *Wheat Malt, German*: 60-90 °L
- *Wheat*, não malteado (flocos, torrado): 0 °L
- *Crystal Malt* (all): 0 °L
- *Chocolate Malt*: 0 °L
- *Black Patent Malts*: 0 °L

Para se compreender melhor a influência do poder diastático na mosturação, apresenta na Tabela 6 os resultados de fermentabilidade (em %) de mosturações realizadas com dois maltes diferentes em três temperaturas (isotermas).

Tabela 6 – Influência do poder diastático e diferentes temperaturas de mosturação na fermentabilidade do mosto

	Malte 1 (Poder diastático 33 °L)	Malte 2 (Poder diastático 90 °L)
Temperatura da mostura	Ferm. (%)	Ferm. (%)
68,0 °C	72	77
65,5 °C	76	86
63,0 °C	79	88

Fonte: Traduzido e adaptado de Briggs *et al.*, 2004.

Os resultados indicam uma diferença significativa nos percentuais de açúcares fermentescíveis no mosto com maior poder diastático, com destaque para 63,0 °C, temperatura na qual a β -amilase tem melhor rendimento, sendo que o produto da reação catalisada por esta exoenzima são açúcares fermentescíveis. Nessa temperatura também há atividade conjunta da α -amilase (menor atividade, por estar fora de sua temperatura ótima).

7 Atuação das enzimas na mosturação

Quando se produz cervejas a partir de grãos de maltes moídos, além de outros adjuntos, é importante conhecer as enzimas apresentadas anteriormente para se escolher as temperaturas que deverão ser atingidas na mosturação, assim o tempo de manutenção em cada uma dessas temperaturas.

Assim, deve-se atentar para: o estilo de cerveja desejada; os insumos utilizados; o método de mosturação; a forma de aquecimento do mosto; a razão de malte:água; as características do equipamento (possibilidades e limitações).

Tipicamente há três métodos possíveis para mosturação:

- **Infusão:** inicia-se por adição de água em temperatura calculada para que se atinja a temperatura alvo da mostura. Para se aumentar a temperatura, adiciona-se água quente até o alvo. Pode-se ter uma única temperatura (infusão simples) ou com várias (infusão múltipla). Essa técnica é muito utilizada por cervejeiros iniciantes, que utilizam caixas térmicas e sacos de voal ou outro material para fazer a mosturação;
- **Decocção:** inicia-se com a inserção de água quente para se alcançar a temperatura alvo inicial, sendo que, as próximas temperaturas alvo são alcançadas se retirando parte do mosto, fervendo e reinserindo este na mostura (há cálculos para se identificar o volume necessário para se alcançar cada temperatura alvo). Recomenda-se até três ciclos de retirada e fervura. Esse é um dos tipos de mosturação usados na produção industrial;
- **Múltiplas rampas de temperatura:** inicia-se com a inserção de água quente para se alcançar a temperatura alvo inicial, sendo que, as próximas temperaturas alvo são alcançadas por aquecimento direto (RIMS ou RIMS adaptado) ou indireto (HERMS) na tina de mosturação, programando-se as paradas (intervalo de tempo em temperatura específica) de acordo com o objetivo pretendido para o mosto final, sendo as temperaturas planejadas em ordem crescente. Essa é um dos tipos de mosturação mais usados pelas microcervejarias e cervejarias industriais.

7.1 Aquecimento

Independentemente do tipo de mosturação ou aquecimento, faz-se importante o planejamento das temperaturas tendo em vista os insumos que foram utilizados (maltes pouco ou muito modificados), além dos adjuntos que podem aumentar o teor de proteínas, β -glucanos, amido etc. na mosturação.

Para qualquer um dos métodos de mosturação, deve-se calcular a temperatura da água primária ²⁰(*Strike Water temperature/SWT*) que será inserida nos grãos para se atingir a temperatura alvo inicial, para tanto, pode-se utilizar a fórmula a seguir:

$$SWT = \left(\frac{0,2}{R} \right) \times (T2 - T1) + T2$$

Sendo:

R = razão de água (L):malte (kg);

T1 = Temperatura do grão;

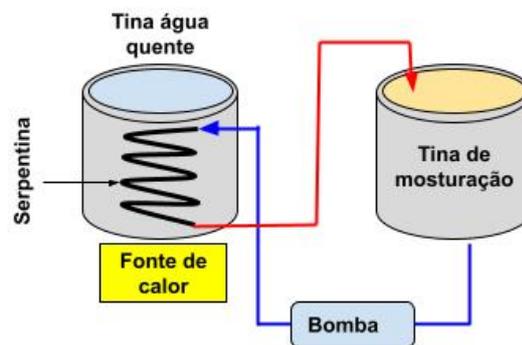
T2 = Temperatura alvo da mostura.

Com relação aos métodos de aquecimentos, dependerá da estrutura, recursos financeiros e objetivos que possui, sendo eles: HERMS (*Heat Exchange Recirculation Mash System*); RIMS (*Recirculating Infusion Mash System*); Aquecimento direto em chama ou resistência (adaptação do sistema RIMS).

HERMS (*Heat Exchange Recirculation Mash System*)

O “sistema de troca de calor por recirculação do mosto” consiste no aquecimento indireto, por troca de calor (Figura 38), com recirculação constante da mostura em uma serpentina (geralmente cobre) imersa em uma tina com água sob aquecimento (elétrico ou gás). Dessa forma, o aquecimento se dá por troca térmica e a temperatura alvo é controlada na tina de água quente. Devido o aquecimento ser indireto, evita-se a caramelização dos açúcares do mosto.

Figura 38 - Esquema simplificado de um exemplo de sistema HERMS



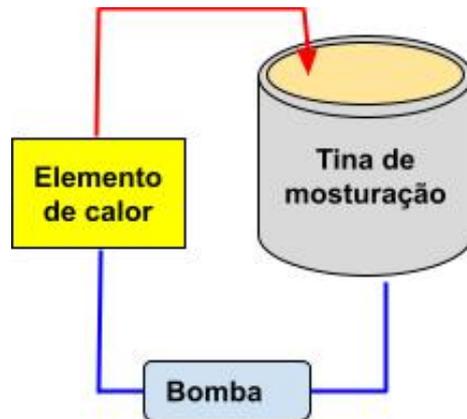
Fonte: O autor.

²⁰ Volume de água usado na primeira etapa da mosturação para adição aos grãos moídos. Deve-se atentar para a razão água:malte. Recomenda-se 2,7 a 4 L de água por quilo de malte.

RIMS (*Recirculating Infusion Mash System*)

O “sistema de recirculação de infusão do mosto” consiste no aquecimento direto por meio de elemento de calor (gás ou resistência elétrica), com circulação constante (Figura 39). Geralmente se usa algum tipo de estrutura para impedir que os grãos moídos circulem pela bomba, para tanto, pode-se utilizar fundo falso, bazuca (*bazooca*) etc., criando-se uma camada com as cascas de grão que funcionam como um filtro. O mosto é bombeado para fora da tina de mosturação e passa pelo elemento de calor e retorna para o mesmo local (pode-se automatizar o sistema para manter a temperatura).

Figura 39 - Esquema simplificado de um sistema RIMS



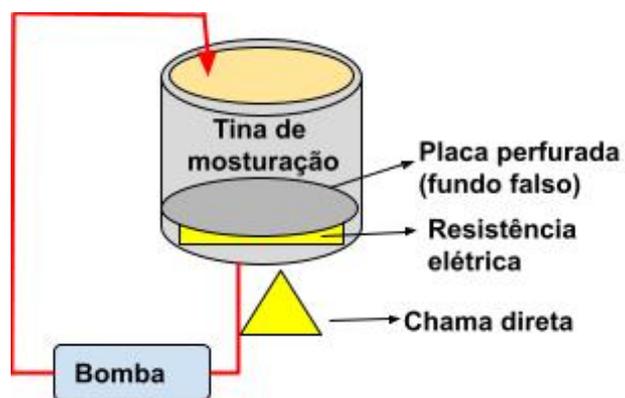
Fonte: O autor.

Aquecimento direto (RIMS adaptado)

Trata-se de uma variação do RIMS, substituindo-se ou complementando-se o elemento de calor na linha externa do mosto por uma fonte direta de calor na tina de mosturação em contato com o mosto. Consiste no aquecimento direto com uma resistência elétrica ao fundo da tina de mosturação (pode estar em contato direto com o mosto ou com fundo plano blindado) ou com chama direta de gás (Figura 40).

Pode-se manter a recirculação constante durante toda a mosturação ou somente durante as fases de aumento de temperatura (rampa programada). Aplica-se ao fundo da tina/panela algum tipo de estrutura para impedir os grãos moídos de circularem pela bomba, criando um filtro natural com as cascas dos grãos, para tanto, pode-se utilizar fundo falso, bazuca (*bazooca* – similar a uma mangueira, mas feita com malha de inox) etc. Este é o sistema mais utilizado por cervejeiros caseiros e nanocervejarias.

Figura 40 - Esquema simplificado do aquecimento direto

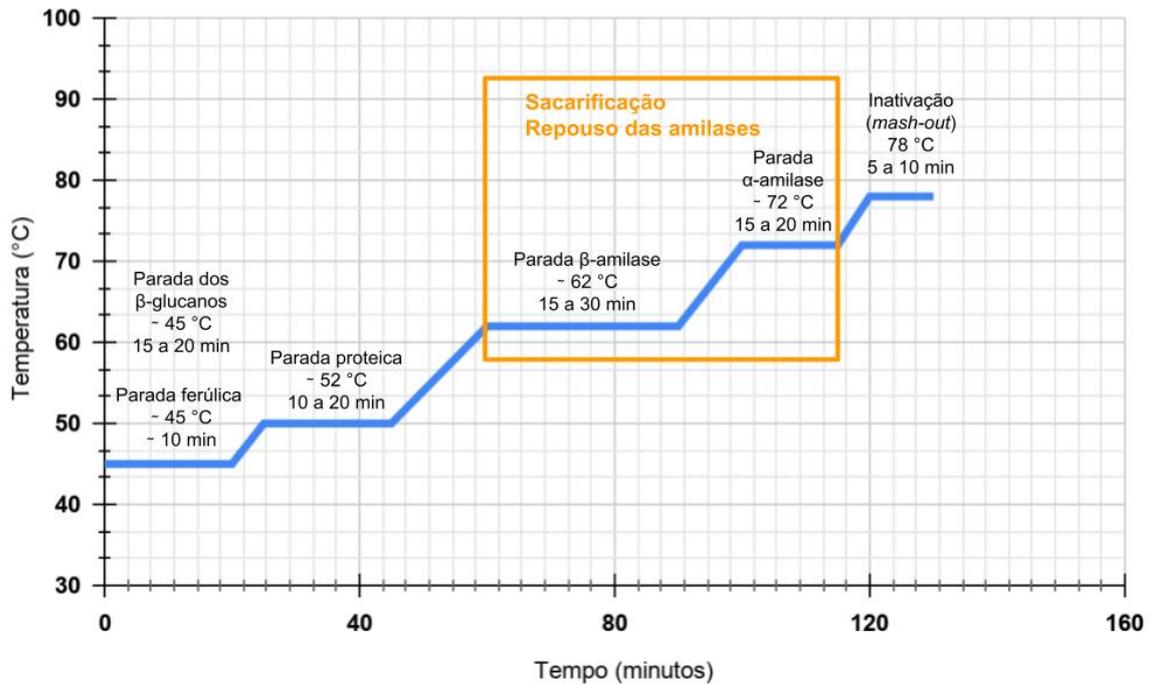


Fonte: O autor.

7.2 Rampas de temperatura

Uma vez estabelecido o método de aquecimento, planejam-se as sequências das temperaturas (Figura 41), considerando-se o estilo de cerveja pretendido, os insumos utilizados e as temperaturas ótimas das principais enzimas envolvidas na mosturação, para que se tenha um mosto que se adeque ao perfil desejado.

Figura 41 – Temperaturas e pH ótimos das principais enzimas na mostura



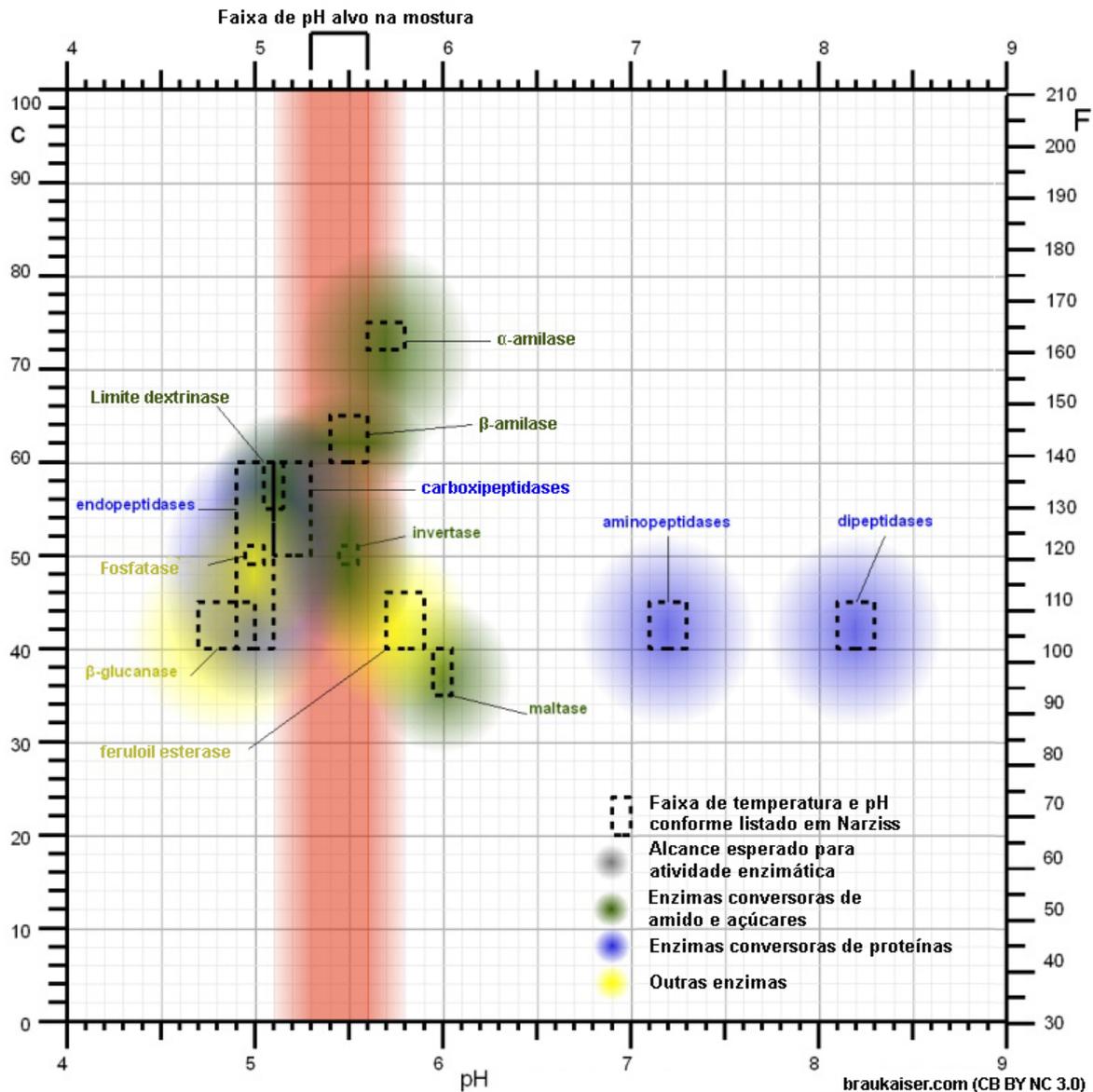
Fonte: O autor, a partir de BRIGGS, *et al.*, 2004.

Tipicamente há seis rampas de temperatura (chamadas de paradas) usadas comumente (Figura 41). Apresentam-se estas em sequência de temperatura (menor para maior): 1. Parada dos β-glucano; 2. Parada ácida; 3. Parada proteica; 4. Parada β-amilase; 6. Parada da α-amilase; 7. Parada para inativação das enzimas (*mash-out*).

As paradas da β-amilase e α-amilase podem ser consideradas como a fase típica da sacarificação do amido, podendo ser agrupadas como parada de sacarificação, também chamada de repouso das amilases.

Cada rampa focará na ação de uma ou mais enzimas presentes na mostura (Figura 42), sendo que cada uma destas apresenta temperatura e pH para atividade ótima diferentes, destacando-se que grande parte das enzimas atuantes são hidrolases, atuando sobre as cadeias de carboidratos e peptídicas.

Figura 42 – Rampas de temperatura (paradas) usadas na mosturação cervejeira



Fonte: Traduzido de Braukaiser. Disponível em: http://braukaiser.com/wiki/index.php/File:PH_and_temp_enzyme_matrix.jpg

Parada de acidificação

A parada ácida teve sua importância na histórica, principalmente para a produção do estilo Pilsen, usando-se água muito mole. Para se alcançar o pH para o alvo, realizava-se esta parada, entre 35 e 52 °C (melhor entre 35 – 40 °C) também chamada de descanso ácido. Nesta parada, o foco está na atividade da enzima fitase, a qual desfosforila o fitato, liberando os fosfatos deste um a um.

A interação entre os fosfatos inorgânicos (a maior parte dos fosfatos no mosto são inorgânicos) e o cálcio presente na água contribuem para a redução do pH. Entretanto, essa parada pode demandar horas para pequenas reduções, assim, tendo em vista os conhecimentos atuais sobre controle de sais na água e pH do mosto, torna-se desnecessária por seu baixo custo-benefício.

Parada do β -glucano

Esta parada tem como objetivo a redução das cadeias de β -glucanos, ou seja, é importante em mostos contendo maltes pouco modificados ou com adjuntos ricos em cadeias de β -glucano, sendo que não é necessária em mosturas com maltes com alta modificação ou sem adjuntos que aumentem a concentração dessas cadeias.

Faz-se importante que o percentual de malte com maior grau de modificação prevaleça, uma vez que há uma grande diferença na atividade das β -glucanases de acordo com o grau de modificação.

Por exemplo, maltes de cevada, para endo- β -glucanase:

- Grau excelente de modificação do malte: 0,343 mPa/s²¹;
- Grau normal de modificação do malte: 0,315 mPa/s;
- Grau pobre de modificação do malte: 0,096 mPa/s.

As enzimas β -glucanases (endo- β -(1,3)-glucanase e endo- β -(1,4)-glucanase) e β -glicosidase atuam nessa parada, na faixa de 35 e 45 °C. Tipicamente se faz a parada em 45 °C e pH 4,5 e 5,5 para maior eficiência do conjunto de enzimas, ou seja, na faixa alvo de pH da mostura terá atividade, apesar de fora do pH ótimo médio (4,7). Mantém-se as condições da parada por 15 a 20 minutos. Destaca-se que a temperatura desta parada também pode corresponder a parada ácida.

Parada do ácido ferúlico/ parada ferúlica

Esta parada é típica para cervejas de trigo nos estilos *witbier* (belga), *Weissbier* (alemã), *Dunkelweizen* (alemã), *Weizenbock* (alemã) etc., uma vez que se pretende a liberação do ácido ferúlico das paredes das células vegetais partir da ação das enzimas. O ácido ferúlico pode ser utilizado por leveduras²², principalmente pelas cepas fenólicas de *Saccharomyces cerevisiae*, como precursor do 4-vinil-guaiacol (odor e gosto de cravo). A principal enzima dessa parada é a esterase de ácido ferúlico (feruloil esterase).

Para esta parada, mantém-se a temperatura entre 43 e 45 °C (tipicamente em 45 °C) por cerca de 10 minutos, com pH ótimo entre 5,7 e 5,8 (na faixa de pH de uma mosturação típica haverá atividade desta enzima).

21 Quanto maior a ação da enzima, maior a redução da viscosidade do mosto, desta forma, pode-se expressar a atividade da endo- β -glucanase em relação a medida de viscosidade – miliPascal/segundos – mPa/s.

22 A temperatura de fermentação mais elevada, acima de 20 °C, estimula a síntese do 4-vinil-guaiacol pelas leveduras de cepas fenólicas.

Destaca-se que se tem atividade das enzimas envolvidas na parada do β -glucano na mesma temperatura desta parada, além disso, haverá boa atividade da enzima fitase, a qual degrada fitatos, formando ácido fítico (reduz o pH da mostura).

Parada proteica

Esta parada tem como objetivo a hidrólise das proteínas, principalmente de alto peso molecular, com a consequente redução das cadeias, além da liberação de Amino Nitrogênio Livre (*FAN – Free Amino nitrogen*). Desta forma, é importante em mostura com uso de maltes pouco modificados ou com alto teor de proteínas, assim como adjuntos com elevado teor de proteínas de alto peso molecular.

Deve-se atentar para a relação entre as concentrações de proteínas de alto, médio e baixo peso molecular. No geral, o excesso de proteínas com alto peso molecular acaba por ser mais prejudicial, assim como é importante ter proteínas de médio peso molecular para contribuir com a formação e retenção da espuma.

- **Alto peso molecular:**

- Vantagens: Contribui pouco para retenção da espuma da cerveja. Contribui para a sensação de corpo;
- Desvantagens: Gera maior turbidez. Ocasiona dificuldades na lavagem do malte (*stuck sparge*). Pode gerar instabilidade na bebida.

- **Médio peso molecular:**

- Vantagens: Contribui para retenção da espuma e corpo da cerveja;
- Desvantagens: Gera aumento da turbidez.

- **Baixo peso molecular:**

- Vantagens: Fonte de nutrientes para leveduras;
- Desvantagens: Não contribui para retenção de espuma.

Deve-se atentar à quantidade de FAN no mosto, uma vez que o excesso de alguns aminoácidos pode ser utilizados em vias que poderão gerar sabores desagradáveis (*off-flavors*) como, por exemplo, pode haver maior produção de álcoois superiores²³, o que gera maior sensação de aquecimento na boca, além de se intensificar o sabor alcoólico.

Há diversas enzimas que atuam nessa parada, com destaque para as proteases, as carboxipeptidases (exopeptidase) e as endopeptidases. Dessa forma, a faixa de temperatura para essa parada é ampla, entre 48 e 55 °C, sendo que o resultado dependerá da temperatura e do tempo escolhido, segundo as faixas gerais, destacando-se:

²³ Também chamado de álcoois fuseis, por exemplo: n-propanol, iso-butanol, 2-metilbutanol e 3-metanbutanol.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

- Pelo menos 04 Carboxipeptidases (exopeptidase):
 - 40 – 50 °C; pH 4,8 – 5,7;
 - Hidrólise a partir do carboxi terminal das cadeias. A partir de proteínas de alto peso molecular, gera proteínas de médio peso, reduzindo a turbidez e melhorando a estabilidade da espuma.
 - O excesso de atividade/tempo pode ser prejudicial.
 - Liberação de dipeptídeos e aminoácidos (aumenta FAN*)
- 04 a 05 Aminopeptidases (Exopeptidase):
 - 45 °C; pH 5,5 – 7,3;
 - Hidrólise a partir do amino terminal da cadeia;
 - Liberação de dipeptídeos e aminoácidos (aumenta FAN*).
- Dipeptidases:
 - 45 °C; pH 8,2 – 8,8;
 - Hidrólise de dipeptídeos;
 - Liberação de aminoácidos – pouca atividade (aumenta FAN*).
- 42 Endopeptidases:
 - 45 – 50 °C; 3,9 – 5,5;
 - Hidrólise de proteínas de alto e médio peso molecular em baixo. Também libera dipeptídeos e aminoácidos.
- Proteases:
 - 50 – 60 °C; pH 3,0 – 6,5;
 - A partir de proteínas de alto peso molecular, gera proteínas de médio peso molecular, reduzindo a turbidez da bebida e melhorando a estabilidade da espuma;
 - O excesso de atividade/tempo pode ser prejudicial.
 - Responsáveis por cerca de 90% da atividade proteolítica.

Tipicamente, trabalha-se esta rampa com 52 °C (maior atividade de proteases e carboxipeptidases), pH 5,2 e com tempo de 15 a 20 minutos (quanto maior o teor de proteínas, maior o tempo). Paradas longas, na faixa de 45 a 50 °C, acabam por degradar excessivamente as cadeias, resultando em espuma de baixa retenção.

Tendo em vista as faixas de temperatura ótima, acreditava-se que a partir de 60 °C não haveria atividade proteolítica, entretanto, as pesquisas indicam que esta ocorre, mais lentamente, até temperaturas superiores.

Parada da sacarificação/descanso da sacarificação

O principal objetivo desta parada é a sacarificação, ou seja, a degradação do amido (amilose e amilopectina) a partir da hidrólise de suas ligações e a consequente produção de açúcares fermentescíveis que serão usados pelas leveduras e outros microrganismos, além dos não fermentescíveis, como as dextrinas que contribuirão para o corpo da bebida. Pode-se separar esta parada em duas rampas (parada da β -amilase e parada da α -amilase) ou se trabalhar em uma temperatura única (isoterma), focando a maior ou menor atividade da β -amilase, α -amilase (II).

Destacam-se nesta parada as enzimas β -amilase, α -amilase (II) e a limite-dextrinase, sendo possível trabalhar com uma única rampa, balanceando a ação das enzimas ou com rampas individualizadas (para β -amilase e α -amilase). Destacam-se as temperaturas de inatividade das enzimas: limite-dextrinase maior que 65 °C; β -amilase maior que 68 °C; α -amilase maior que 80 °C.

Em 60 °C se tem o mosto final com maior potencial fermentável, resultando na maior atenuação aparente possível (87,5%) e, a medida que se aumenta a temperatura, reduz-se a atividade da β -amilase e limite dextrinase e aumenta-se a atividade da α -amilase, dessa forma, obtêm-se os seguintes potenciais máximos de atenuação aparente: 86,5% em 65 °C; 76,8 % em 70 °C; 54,5% em 75 °C.

Em síntese, o aumento da temperatura a partir de 60 – 62 °C resultará na redução da fermentabilidade, entretanto, decorrente da maior quantidade de dextrinas, aumenta-se o corpo da bebida. O ajuste dessa rampa determinará a relação entre a produção do etanol pela fermentação e o corpo da bebida. Em torno de 67 °C tem-se cerca de 50% de atividade para β -amilase, α -amilase (II), resultando em um mosto equilibrado com relação a fermentabilidade de corpo (pelos açúcares residuais).

Parada da β -amilase

Esta parada tem como principal objetivo a produção de açúcares fermentescíveis, que serão utilizados pelas leveduras. A principal enzima atuante é a β -amilase (exoenzima que hidrolisa ligação α -1,4, produzindo maltose), com temperatura ótima entre 60 e 65 °C. Destaca-se que, mesmo nesta temperatura, há atividade da α -amilase (mesmo que reduzida), sendo que em 65 °C a α -amilase II terá cerca de 50% de sua atividade. Além disso, próximo de 60 °C se tem atividade da limite-dextrinase (redução das ramificações).

A manutenção da temperatura do mosto entre 62 e 63 °C (pH ~ 5,4 – 5,5) resultará em mosto maior quantidade de açúcares fermentáveis (maior fermentabilidade – maior teor alcoólico) e, conseqüentemente, menor concentração de açúcares não fermentescíveis que contribuem para o corpo (menor corpo).

O tempo nesta parada varia entre 15 e 30 minutos e desta dependerá do tempo da rampa da α -amilase ou se pretende utilizar rampa única de sacarificação.

Parada da α -amilase

Tem como principal objetivo a degradação do amido (amilose e amilopectina) e oligossacarídeos em dextrinas menores pela α -amilase II (hidrólise das ligações). Dependendo do tempo há também produção, em menor concentração, de açúcares fermentescíveis. Destaca-se que a α -amilase auxilia na rápida liquefação do amido.

As dextrinas não serão utilizadas pelas leveduras, contribuindo para o corpo da bebida, desta forma, quanto mais tempo de ação da α -amilase em relação a atividade da β -amilase, menor fermentabilidade e maior corpo.

A temperatura desta rampa se encontra entre 72 e 75 °C, sendo a rampa típica em torno de 72 °C (pH 5,6 – 5,8), com tempo entre 15 e 20 minutos. Destaca-se que a α -amilase é inativada em torno de 78 °C (temperatura comum para o *mash-out*) e desnaturada a partir de 80 °C.

Inativação das enzimas/ *mash-out*

Esta é a última rampa de temperatura da mosturação que tem como objetivo a inativação das enzimas atuantes, para que se mantenha o perfil do mosto resultante da programação das rampas. Por exemplo, caso se mantenha a temperatura de 73 – 75 °C durante a fase de clarificação, lavagem dos grãos e transferência para tina de fervura, tem-se a continuidade da ação da α -amilase, desta forma as concentrações de dextrinas reduzirão e os açúcares fermentescíveis aumentarão (redução do corpo), perdendo-se o perfil produzido e esperado para a bebida.

Recomenda-se a manutenção da temperatura entre 77 e 78 °C por cerca de 10 minutos, sendo importante não ultrapassar a temperatura de 80 °C. Acima de 80 °C se tem uma maior extração de taninos da casca dos maltes, o que poderá resultar em maior sensação de adstringência na boca pela cerveja (gera-se um *off-flavor*). Além disso, a temperatura elevada poderá resultar no aumento da turbidez da cerveja, assim como prejudicar a espuma da bebida.

7.3 Síntese das rampas de temperatura

Apresenta-se na Tabela 7 a síntese das atividades das principais enzimas nas paradas/rampas de temperatura utilizadas na mosturação cervejeira.

Tabela 7 – Síntese das principais paradas e enzimas atuantes na mosturação

Rampa/Parada		Temp. °C	Temp. típica °C	Faixa pH	Tempo (min)	Principais objetivos
Parada de acidificação		30 – 52	35	5,0 – 5,5	Variável (horas)	Acidificação do mosto. Atualmente é pouco utilizada.
Parada do β-glucano		35 – 45	45	4,5 – 5,5	15 – 20	Hidrolisar β-glucanos. Reduzir viscosidade.
Parada ferúlica		43 – 45	45	5,7 – 5,8	10	Liberar ácido ferúlico que poderá ser usado pela levedura para gerar 4-vinil-guaicol.
Proteica Parada	Proteases (geral)	50 – 60	52	3,0 – 6,5	10 – 20	Hidrolisar proteínas de maior peso molecular para médio
	Exopeptidases carboxipeptidases	40 – 50	50	4,8 – 5,7		Hidrolisar proteínas a partir da carboxila terminal, liberando dipeptídeos e aminoácidos (FAN*)
	Exopeptidases aminopeptidases	45	45	5,5 – 7,3		Hidrolisar proteínas a partir da amina terminal, liberando e aminoácidos (FAN*)
	Dipeptidases*	45	45	8,2 – 8,8		Hidrolisar dipeptídeos. Liberar aminoácidos (FAN*)
	Endopeptidases	45 – 50	55	3,9 – 5,5		Hidrolisar proteínas de alto e médio peso em baixo. Liberar dipeptídeos e aminoácidos
Parada da sacarificação	Limite-dextrinase	55 – 60	58	5,1 – 5,2	***	Liberar maltose, maltotriose ou cadeias maiores
	β-amilase	60 – 65	62	5,4 – 5,5	15 – 30	Liberar carboidratos fermentescíveis contribuindo com o teor alcoólico
	α-amilase	72 – 75	72	5,6 – 5,8	15 – 20	Liberar carboidratos não fermentescíveis. Contribuir com o corpo.
Inativação (mash-out)		76 – 78	78	—	5 – 10	Inativar as enzimas da mostura

Fonte: o autor a partir de Briggs *et al.* (2004) e Künze (2004).

*FAN: *Free Amino Nitrogen* (Amino nitrogênio livre)

** Faixa de pH distante da faixa de pH da mostura (muito baixa ou nenhuma atividade).

*** O tempo será o mesmo da β-amilase, caso esteja na faixa de atividade (até 65 °C)

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

A partir da Tabela 7, tem-se uma visão geral da atuação e da importância das enzimas para mosturação (destaque para as enzimas que atuam na hidrólise do amido) e produção de mostos distintos que resultarão em bebidas diferenciadas.

Reforça-se que a escolha das faixas de pH e temperaturas é considerada vital para a produção cervejeira e, nesse sentido, apresenta-se a Tabela 8, na qual se indicam resultados de mosturas em rampas isotérmicas e os resultados com relação ao percentual de extrato e extrato fermentescível produzidos.

Observa-se (Tabela 8) que o maior percentual de extrato fermentescível foi produzido em 65 °C, sendo que em 60 °C o percentual foi muito próximo, uma vez que estas temperaturas se situam na faixa da temperatura ótima da β -amilase (exoenzima) e, 65 °C houve a sinergia entre a ação da β -amilase e α -amilase.

Por outro lado, a mostura isotérmica em 70 °C gerou o menor percentual de extrato fermentescível, uma vez que nessa temperatura a β -amilase não tem atividade, ficando somente a ação da α -amilase (endoenzima), que tem um potencial para formação de açúcares fermentescíveis reduzidos, conforme indicado anteriormente (Tabela 7, Figura 41, Figura 42).

Tabela 8 – Extratos e extrato fermentável obtidos a partir de mosturas isotérmicas em diferentes períodos de incubação

Tempo da mostura (min)/ temperaturas isoterms (°C)	15	30	60	120	180
60 °C					
Extrato (%)	50,2	53,4	57,2	60,7	62,2
Extrato fermentescível (%)	36,0	39,0	43,1	47,9	50,2
65 °C					
Extrato (%)	60,6	62,2	62,8	63,6	63,6
Extrato fermentescível (%)	44,2	46,6	48,5	50,7	51,7
70 °C					
Extrato (%)	61,2	62,5	62,9	63,4	63,6
Extrato fermentescível (%)	40,9	42,0	41,6	42,2	42,7

Fonte: Traduzido e adaptado de Briggs *et al.*, 2004.

Apresentam-se a seguir as sínteses dos possíveis resultados em mosturas por valores de temperaturas (Tabela 9) e pH (Tabela 10), destacando alguns dos possíveis resultados decorrentes das ações enzimáticas. Dessa forma, tem-se uma ideia geral das consequências ao se variar tais condições. No caso da tabela 7, os valores de pH para cada objetivo/processo podem ser apresentados de forma distinta para o mosto resfriado e aquecido, uma vez que a temperatura influencia na mensuração do pH.

Tabela 9 – Temperatura ótima para mosturas, realizada durante 2 ± 3 h. Os valores podem ser substancialmente diferentes em diferentes condições de mosturação

Objetivo/processo	Temperatura °C
Maior extrato (prioritariamente pela conversão do amido)	65 – 68
Sacarificação mais rápida (dextrinização)	70
Rendimento mais rápido de açúcares redutores (fermentescíveis)	60 – 63
Maior percentual de fermentabilidade (%)	63
Maior percentual de nitrogênio solúvel permanente	50 – 55
Maior rendimento de tampões	45 – 55
Atividade máxima da α -amilase	70
Atividade máxima da β -amilase	60
Atividade máxima da β -glucanase	40
Atividade máxima da fitase	50 – 60

Fonte: Adaptado e traduzido de BRIGGS *et al.*, 2004.

Tabela 10 – Valores de pH ótimos para infusão isotérmica com malte pale, com duração de 1 ± 2 h. A 65,5 °C. Na medida do possível, indica-se o pH nas temperaturas da mostura quente e/ou resfriada

Objetivo/processo	pH ótimo	
	Medido no mosto quente	Medido no mosto resfriado
Sacarificação mais rápida (dextrinização)	5,3	5,7
Maior quantidade de extrato	5,2 – 5,4	5,55 – 5,75
Mosto com maior fermentabilidade (maior concentração de açúcares fermentáveis)	5,1 – 5,3	5,4 – 5,6
Mostura não filtrável	< 4,7	
Atividade máxima da α -amilase (com Ca^{+2})	5,3	5,7
Atividade máxima da β -amilase	5,1 – 5,3	5,4 – 5,6
Rendimento máximo de nitrogênio solúvel permanente	4,4 – 4,6	4,9 – 5,1
Atividade máxima de proteases (depende do substrato)	4,3	4,6 – 5,0
Atividade máxima da fitase	~ 5,2	~ 5,5
Atividade máxima das carboxipeptidases	4,8 – 5,7	

Fonte: Traduzido e adaptado de BRIGGS *et al.*, 2004.

8 Enzimas comerciais

Durante as etapas de produção cervejeira é possível a utilização de enzimas como coadjuvantes de tecnologia de fabricação, sendo que cada enzima específica deverá ter autorização dos órgãos de regulamentação para uso.

O uso das enzimas comerciais no processo pode trazer, quando bem utilizada (desde a escolha à concentração), diversos benefícios aos processos, dependendo do uso, como: redução do tempo de sacarificação; redução de cadeias indesejadas (como β -glucanos); menor tempo de fermentação; maior atenuação aparente da cerveja; menores concentrações de carboidratos na bebida (pensando em cervejas de baixo teor de carboidratos); redução do glúten; maior estabilidade coloidal; economia de energia e água etc.

Seu uso pode ocorrer nas diversas etapas, como na malteação, mosturação, fermentação e maturação. Por exemplo, na mosturação, com enzimas que auxiliam na degradação de proteínas, do amido, de β -glucanos etc., assim como na fermentação ou maturação, por exemplo, para degradação do glúten.

A adição das enzimas comerciais poderá ser usada para aumentar a eficiência dos processos ou para adequar receitas com baixo poder diastático ou com grandes quantidades de alguma biomolécula (como os β -glucanos) ou mesmo para se obter cervejas com algum diferencial, como cerveja com baixo teor ou sem carboidratos, assim como com glúten reduzido ou livre de glúten.

Apresenta-se a seguir alguns exemplos de enzimas e suas utilizações:

- **Etapa de malteação:**

- ***Endozym Glucacel UHT – AEB***: Solução de enzimas (β -glucanases termorresistentes, pentonases, celulasas, xilanases e arabanases). Pode ser usada na malteação (fase da germinação) para se obter mostos com menor viscosidade, aumentando a eficiência da clarificação/recirculação e a estabilidade da cerveja.

- **Etapa de mosturação – foco no amido:**

- ***AMG 300L***: Solução com amiloglicosidade (glicoamilase) obtida a partir de fungos ascomicetos (*Aspergillus niger*). Hidrolisam as cadeias do amido a partir de suas extremidades nas ligações α -1,4 e, mais lentamente, α -1,6 (ramificações, auxiliando na degradação do amido e formação de açúcares fermentescíveis. Pode ser usado na fabricação de xarope de glicose.

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

Apresenta atividade ótima em torno de pH 4 e 75 °C. Agé similarmente às enzimas *Endozym Alphamyl* SB1-AEB e *Termamyl*®;

- **Endozym Alphamyl SB1-AEB:** Solução de α -amilase obtida a partir de bactérias (*Bacillus licheniformis*) que podem auxiliar na sacarificação. Indicada para preparações com maior percentual de adjuntos não malteados ou maltes de baixo poder diastático. Sua atividade ótima ocorre entre os pH 4,5 e 5,8 e entre 80 e 90 °C. Pode ser usada sobre os adjuntos previamente à adição dos maltes moídos na mostura ou antes da fervura;
- **Termamyl®:** Solução de α -amilase termorresistente, obtida a partir de bactérias (*Bacillus licheniformis*) auxilia na degradação do amido. Indicado para mosturas com maltes de baixo poder diastático ou com maiores percentuais de adjuntos sem ou com baixo poder diastático. Capaz de atuar na faixa de pH entre 3,5 e 8,5 (melhor entre 5,5 e 6,5) e na faixa de 45 a 95 °C (melhor entre 87 e 90 °C), sendo que a presença de cálcio iônico auxilia na melhora de sua atividade.

● Etapa de mosturação – foco nos β -glucanos:

- **Prodooze BG:** Solução contendo enzimas β -glucanases de alta eficiência. Atuam na degradação das cadeias de β -glucanos (também atuam de forma similar as xilanases e arabinoxilanases), dessa forma, reduzem a viscosidade do mosto, auxiliando na circulação/filtração, assim como ajudam na exposição das cadeias do amido para ação das enzimas amilolíticas. Apresentam ampla faixa de atividade, entre 30 e 80 °C (melhor entre 68 a 72 °C) e entre os pH 4,6 e 6,5 (melhor entre 5,6 e 6,0).

● Etapa de fermentação – foco na redução das dextrinas:

- **Attenuzyme Pro:** Solução contendo as enzimas glicoamilase (hidrolisa ligações α -1,4 e α -1,6 das dextrinas) e pululanase (hidrolisa ligação α -1,6 da cadeia de pululano, amilopectina e glicogênio). Obtidas a partir de *Aspergillus niger* (fungo, ascomiceto) e *Bacillus subtilis* (bactéria). Pode ser usada no início da fermentação (3º dia) para maior ou completa degradação das dextrinas, com maior formação de açúcares fermentescíveis, possibilitando maior atenuação na fermentação, resultando em uma cerveja mais seca. Geralmente indicada para fabricação de cerveja no estilo BRUT IPA e cervejas *ultra-lights*;

Princípios da produção cervejeira e as enzimas na mosturação

- **Endozym AGP 120:** Solução contendo as enzimas amiloglicosidase, α -amilase, pululanase e dextrinases, produzidas a partir de fungos e bactérias. Pode ser adicionada no início da fermentação e auxiliam na degradação completa das dextrinas, com maior geração de açúcares fermentescíveis, resultando em uma cerveja com menores teores de carboidratos e mais secas. Geralmente indicada para fabricação de cerveja no estilo BRUT IPA e cervejas *ultra-lights*.

- **Etapas de fermentação/maturação – foco no glúten:**
 - **Brewer Clarex®:** Solução contendo a enzima prolil endopeptidase ácida (prolina específica), obtida a partir de cepas modificadas geneticamente de *Aspergillus niger*. Atua na degradação de proteínas, incluindo as que geram o *haze* (turvação) e o glúten. Desta forma, auxiliará na estabilidade da cerveja, brilho e, com destaque, na redução significativa das concentrações (abaixo de 10 ppm).

9 Considerações finais

A partir da apresentação sintética do processo de fabricação da cerveja e seus insumos, procurou-se criar um panorama da produção e aprofundar a primeira etapa produção na fase quente, denominada mosturação, na qual há a extração e conversão de moléculas advindas dos insumos cervejeiros (principalmente maltes) para preparação do mosto que é entregue às leveduras e outros microrganismos para fermentação. De acordo com o que é entregue para a fermentação, da cepa do microrganismo (pode ser mais de um e em momentos distintos) e das condições de fermentação, pode-se obter uma grande diversidade de bebidas, dentro dos estilos de cerveja existentes.

Dada a importância da fase de mosturação para o resultado final da bebida, este *ebook* focou nas enzimas que podem atuar durante a fase da mosturação, as quais apresentam ações diversas sobre as moléculas presentes, destacando as enzimas da classe hidrolase, ou seja, que realizam hidrólises das ligações das cadeias (“rompem”), como das proteínas, do amido, β -glucanos entre outras.

Dentre os métodos de mosturação, destaca-se o uso das rampas de temperatura, o qual consiste em manter a mostura em determinada temperatura para que se tenha ações de enzimas específicas (ou grupo de enzimas), nomeadamente as paradas. As principais paradas utilizadas e abordadas no *ebook* foram: parada do β -glucano; parada ácida (ou parada ferúlica); parada proteica; parada de sacarificação (que pode ser única ou dividida em duas paradas, da β -amilase ou α -amilase). Ao fim da mosturação tem-se uma parada para inativação das enzimas (*mash-out*) para se dar sequência às etapas quentes da produção sem que haja alteração no perfil estrutural das moléculas do mosto por ação enzimática.

A escolha das rampas de temperatura durante o planejamento da fabricação depende de se conhecer muito bem o estilo desejado, os insumos (que serão os substratos) e, sobretudo, as enzimas envolvidas e presentes nos maltes, uma vez que cada enzima apresenta ações e substratos distintos, assim como temperaturas e pHs de atividade ótimos diferenciados, fazendo-se necessário a programação cuidadosa da produção a partir dos conhecimentos abordados neste capítulo.

Espera-se que a leitura tenha contribuído para se compreender melhor a ciência que está por trás da produção cervejeira, dando subsídios para o desenvolvimento de melhores e mais variados produtos.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 64, de 29 de novembro de 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0064_29_11_2011.html.

Acesso em: 16 mar. 2022.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 65, de 29 de novembro de 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0065_29_11_2011.html.

Acesso em: 16 mar. 2022.

AQUARONE, E. (coord.) **Biotecnologia industrial**: Volume IV Biotecnologia na Produção de Alimentos. São Paulo: Blucher, 2011.

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W., (coord.) **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: E. Blucher, 1983. 227 p. 23 cm.

BAMFORTH, C. W. **Brewing**: New Technologies. New York: CRC Press, 2006.

BAMFORTH, C. W. **Standards of brewing**: A practical approach to consistency and excellence. Boulder: Brewer Association, 2002.

BARNETT, J.A., ENTIAN, K.D. A history of research on yeasts 9: regulation of sugar metabolism. **Yeast**, v.22, 835-894p, 2005. Disponível em <https://dx.doi.org/10.1002/yea.1249>. Acesso em 17 jun. 2021.

BATISTA, P. R. **Manual de boas práticas de fabricação**. Trindade: Indústria e comércio de bebidas Imperial S/A, 2008.

BERG, J.M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

BERTOFT, E.; ANDFOLK, C.; KULP, S.E. Effect of pH, temperature, and calcium ions on barley malt α -amylase isoenzymes. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 90, 298 – 302 p., 1983. Disponível em <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1984.tb04278.x>. Acesso em: 25 jun. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf.

Acesso em: 11 mar. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. **Instrução Normativa Nº 65, de 10 de dezembro de 2019**. Brasília, 2019. Disponível em:

<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: 12 mar. 2020.

BRASIL. **Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009**. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a

produção e a fiscalização de bebidas, Brasília, 2019. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2009/decreto/d6871.htm. Acesso em: 12 mar. 2020.

BRIGGS, D.E.; BOULTON, C.A.; BROOKS, P.A.; STEVEN, R. **Brewing: Science and Practice**. New York: CRC Press, 2004.

BUENO, A. F.; OLIVEIRA, G. A. V.; ALMEIDA, V. S.; HORNINK, G. G.; DALA-PAULA, B. M. Avaliação dos teores de fenólicos totais e do potencial antioxidante durante a produção de cerveja artesanal. *Exatas Online*, v. 12, n. 2, p. 116-128, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/356536258_Avaliacao_dos_teores_de_fenolicos_totais_e_do_potencial_antioxidante_durante_a_producao_de_cerveja_artesanal. Acesso em: 09 maio 2022.

CAMPOS, A.C.S.; BRANDÃO, R. L. **Estudo sobre o desenvolvimento de cervejas utilizando fermentação consorciada entre bactérias do ácido láctico e levedura isolada de alambique de cachaça**. 2017. 75f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Ouro Preto, 2017. Disponível em: <http://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/7710>. Acesso em: 04 out. 2018.

CENSI, I. O.; SLOMP, E. T.; PINHEIRO, L. D. S.; GHESTHI, G. F. **Cevada e malteação**. Curitiba: Appris, 2021.

DANIELS, R. **Designing great beers**: The ultimate guide to brewing classic beer styles. Boulder: Brewer Association, 2000.

MATOUJKOVÁ D.; ŠAVE, J. Brewing and the taxonomy of brewer's yeast. Peer-reviewed article. **Kvasny Prumysl**, v. 53, n.7-8, 2007. Disponível em: <http://doi.org/10.18832/kp2007012>. Acesso em: 10 nov. 2020.

DEEDS, S. **Brewing engineering**: Great beer through applied science. 2. ed. San Bernardino: Createspace, 2013.

ESKIN, N.A.M.; SHAHIDI, F. **Bioquímica de alimentos**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

EVANS, E.; WEGEN, B.; MA, Y.; EGLINTON, J. The Impact of the Thermostability of α -Amylase, β -Amylase, and Limit Dextrinase on Potential Wort Fermentability. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 61, n. 4, p. 210-218, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-61-0210>. Acesso em: 05 jul. 2021.

FIX, G. **Principles of brewing science**: a study of serious brewing issues. 2. ed. Boulder: Brewers publications, 1999.

HANSEN, E. C. **Practical studies in fermentation being contributions to the life history of micro-organisms**. London: E. & F. N. SPON, 1896.

HIERONYMUS, S. **For the love of Hops**: The practical guide to aroma, bitterness and the culture of hops. Boulder: Brewer Association, 2012.

HOPKINS, R. H. **Biochemistry applied to beer brewing: general chemistry of raw materials of malting and brewing**. Read Books Ltd., 2013

HOUSTON, J. **Home Brewing: A complete Guide on how to brew beer.** New York: Pylon Publishing LLC, 2013.

HORNINK, G.G.; GALEMBECK, E. **Glossário cervejeiro: da cultura à ciência.** Alfenas: UNIFAL-MG, 2019. Disponível em: https://www.unifal-mg.edu.br/bibliotecas/system/files/imce/glossario_cervejeiro_2019_tela.pdf. Acesso em: 15 nov. 2021.

KÜNZE, W. **Technology, brewing & Malting.** 3. ed. Berlin: VLB Berlin, 2004.

KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. **The Yeasts – A Taxonomic Study.** 4 ed. Amsterdam: Elsevier, 1998.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica de Lehninger.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia: tecnologia das fermentações.** São Paulo: Ed. Edgard Blucher, 1975.

NARZIß, L.; BACK, W.; GASTL, M.; ZARNKOW, M. **Abriss der Bierbrauerei: 7.,aktualisiert und erweiterte Auflag.** Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

PELLITERO, M.A. **Aptaensayo com detección espectrofotométrica para cuantificación de gluten.** Dissertação (Mestrado em Ciências Analíticas e Bioanalíticas) – Universidade de Oviedo, Oviedo, p. 46, 2014.

MacGREGOR, A.W. α -amilase I from malted barley – physical properties and action pattern on amylose. **Cereal Chemistry.** v. 55, n. 5, p. 754-765, 1978. Disponível em: https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1978/Documents/chem55_754.pdf. Acesso em: 04 jul. 2021.

MacGREGOR, E.A. α -Amylase structure and activity. **Journal of Protein Chemistry,** v.7, p. 399-415, 1988. Disponível em: <http://doi.org/10.1007/bf01024888>. Acesso em: 18 jun. 2021.

MALLETT, J. **Malt: A practical guide from field to brewhouse.** Boulder: Brewer Association, 2014.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica básica.** 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

MORADO, R. **Larousse da cerveja.** São Paulo: Alaúde Editorial, 2017.

MOSHER, R. **Radical Brewing.** São Paulo: Ed. Krater, 2018.

MOSHER, R. **Tasting beer: an insider's guide to the world's greatest drink.** 2 ed. North Adams: Storey Publishing, 2017.

MUXEL, A. A. **Química da Cerveja: Uma Abordagem Química e Bioquímica das Matérias-Primas, Processo de Produção e da Composição dos Compostos de Sabores da Cerveja.** Curitiba: Editora Appris, 2022.

OETTERER, M. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006.

OLIVER, G.; MENDES, I. (eds). **O guia Oxford da cerveja**. São Paulo: Blucher, 2020. 1056p.

PALMER, J.; KAMINSKI, C. **Water: A comprehensive Guide for brewers**. Boulder: Brewer Association, 2013.

PAPAZIAN, C. **The Complete Joy Of Home Brewing**. 3 ed. Nova York: Morrow, 2003.

PILLAI R.; REDMOND, M.; RÖDING, J. Anti-Wrinkle Therapy: Significant New Findings in the Non-Invasive Cosmetic Treatment of Skin Wrinkles with Beta-Glucan. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 27, n. 5, p. 292-292, 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1463-1318.2005.00268_3.x. Acesso em: 17 jun. 2021.

RABIN, D.; FORGET, C. **Dictionary of beer & brewing**. 2. ed. Boulder: Brewer Association, 1998.

SILVA, R.N., MONTEIRO, V.N., ALCANFOR, J.D.X., ASSIS, E.M., ASQUIERI, E.R. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 337-341. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000300007>. Acesso em: 12 maio 2021.

SPÓSITO, M.N., et al. A cultura do lúpulo. Série produtor rural. Piracicaba: ESALQ-USP, 2019. Disponível em: https://www.esalq.usp.br/biblioteca/file/4098/download?token=h3Ea_cPL. Acesso em: 11 set. 2019.

VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas alcoólicas**, v. 1. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2016.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria prima, processamento, BFP/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast: The practical guide to beer fermentation**. Boulder: Brewer Association, 2010.

Autor

Gabriel Gerber Hornink



Possui bacharelado e licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, especialização em gestão ambiental pela Unicamp, mestrado em Biologia Funcional e Molecular – área Bioquímica e doutorado em Ciências, ambos pela Unicamp. Realizou pós-doutorado na Universidade do Minho. Desde 2009 está como professor na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), atuando na graduação e pós-graduação, desenvolvendo atividades de ensino, pesquisa extensão e administrativas. Ministra as disciplinas de Bioquímica e Ciência da Cerveja (optativa) na graduação e a disciplina de tecnologia da produção de cerveja artesanal no curso de especialização em Tecnologia e Qualidade em Produção de Alimentos. Coordena, desde 2019, o projeto de

extensão Cerveja com Ciência. A partir do interesse em produzir cervejas em casa, iniciou os estudos sobre a produção em 2013, aproveitando os conhecimentos prévios da Bioquímica e dos processos fermentativos, aplicando esses na produção cervejeira que teve início em 2015. Em 2019 publicou o *ebook* “[Glossário cervejeiro: da cultura à ciência](#)” com mais de 700 verbetes e iniciou a produção de [materiais didáticos](#) envolvendo a ciência cervejeira. Está envolvido em pesquisas envolvendo a produção cervejeira e o potencial antioxidante da bebida.

<http://lattes.cnpq.br/7615930937088442>

Revisores

Alex Uzêda de Magalhães



Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria e doutorado em Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras/UFLA pela Universidade Federal de Lavras. Atualmente é coordenador da UEP de cervejas artesanais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais e professor de nível básico, técnico e tecnológico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais. Coordena a [cervejaria escola CervArt](#) desde 2018. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, com ênfase em Ciência e Tecnologia de Alimentos, atuando principalmente nos seguintes temas: qualidade, fermentação, cerveja, padronização e levedura.



<http://lattes.cnpq.br/5171989562890507>

Bruno Martins Dala Paula



Possui graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Minas Gerais, especialização em Tecnologia de Frutas e Hortaliças pela UFPel, especialização em Gestão e Monitoramento de Projetos Sociais pela Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas da UFMG, mestrado e doutorado em Ciências de Alimentos pela Faculdade de Farmácia da UFMG, com período de 12 meses de Estágio Sanduíche no *United States Department of Agriculture* (USDA-ARS) em Fort Pierce, FL, Estados Unidos. Atua como professor na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e é docente permanente do Programa de Pós-graduação em Nutrição e Longevidade (PPGNL/UNIFAL-MG) e do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (IFSULDEMINAS / Campus Machado). Também atua na especialização em Tecnologia e Qualidade em Produção de Alimentos. Coordena o projeto Repassa-Sul de Minas ((Rede para Elaboração de Produtos Alimentícios a partir de Subprodutos dos Sistemas Alimentares do Sul de MG), financiado pela Fundação Cargill. Entre suas produções, organizou o [eBook Química e Bioquímica de Alimentos](#).

<http://lattes.cnpq.br/5246931390431639>

Contato



**Laboratório de
Mídias Educacionais**

Construindo ideias bit a bit

01001100 01001101 01000101

**Departamento de Bioquímica
Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade Federal de Alfenas**



Endereço:

R. Gabriel Monteiro da Silva, 700, sala E209D
CEP: 37.130-001 Alfenas-MG

Website: <https://www.unifal-mg.edu.br/lme/ervejacomciencia>

Fone: +55 35 3701-9560

Email: labmidias@unifal-mg.edu.br

Indicação de outros materiais



No âmbito do projeto Cerveja com Ciências foram produzidos diversos materiais que podem ser consultados e obtidos no site: <https://www.unifal-mg.edu.br/lme/cevejacomciencia/materiais>.

Tipos de materiais produzidos:

- **eBooks:** textos abordando a ciência da cerveja;
- **Fichas de produção:** ficha resumida e expandida para registro da produção;
- **Minuto da Cerveja:** *Videocasts* sobre cerveja;
- **InfoGráficos:** Produções visuais sintéticas sobre diversas temáticas;
- **Publicações do grupo:** Artigos acadêmicos e resumos em eventos desenvolvidos pelo grupo do projeto;
- **Vídeos/gravações:** gravações de lives e vídeos sobre produção cervejeira;
- **Banco de materiais:** repositório de arquivos abertos sobre a ciência da cerveja;
- **Indicações de leituras:** Lista de referências (artigos, teses, livros etc.).



Lote	Nome		
Início	/ / 201_	Vol. Lúpulo (L)	Vol. H ₂ O (L)
Aroma		Sabor	
OG		Brassagem	Lupulagem
FG		°C	Min.
IBU		Min.	Lúp.
SRM	EBC		
ABV			
pH H ₂ O inicial			
pH H ₂ O final			
pH H ₂ O brassagem			
pH H ₂ O lavagem			
Dureza total H ₂ O			

PROVAS DESCRITIVAS

Proporcionam a descrição sensorial complexa, íntegra e multidimensional dos produtos, possibilitando avaliar suas características e aspectos sensoriais, sendo características dos diversos conjuntos de parâmetros de análise.

QUANDO É UTILIZADA?

- Desenvolvimento ou modificação de produtos;
- Definir um produto (perfil sensorial);
- Controle de qualidade;
- Correlações instrumentais sensoriais;
- Prova de validade dos produtos;
- Comparação entre produtos de referência ou similares.

ASPECTOS QUALITATIVOS E QUANTITATIVOS

Os testes nesse método permitem descrever as amostras atentando-se (na observação) por seus aspectos qualitativos e quantitativos.

Aspectos qualitativos	Aspectos quantitativos
Classificam as características como: cor, densidade visual, aroma, sabor e de textura oral.	Classificam o grau de intensidade de cada característica presente no alimento, mensurando esta intensidade através de escalas.



ISSN 2178-0471
vol. 12 n.2 Nov. 2021
pág. 116-128

Avaliação dos teores de fenólicos totais e do potencial antioxidante durante a produção de cerveja artesanal
Evaluation of total phenolic content and antioxidant potential during craft beer production

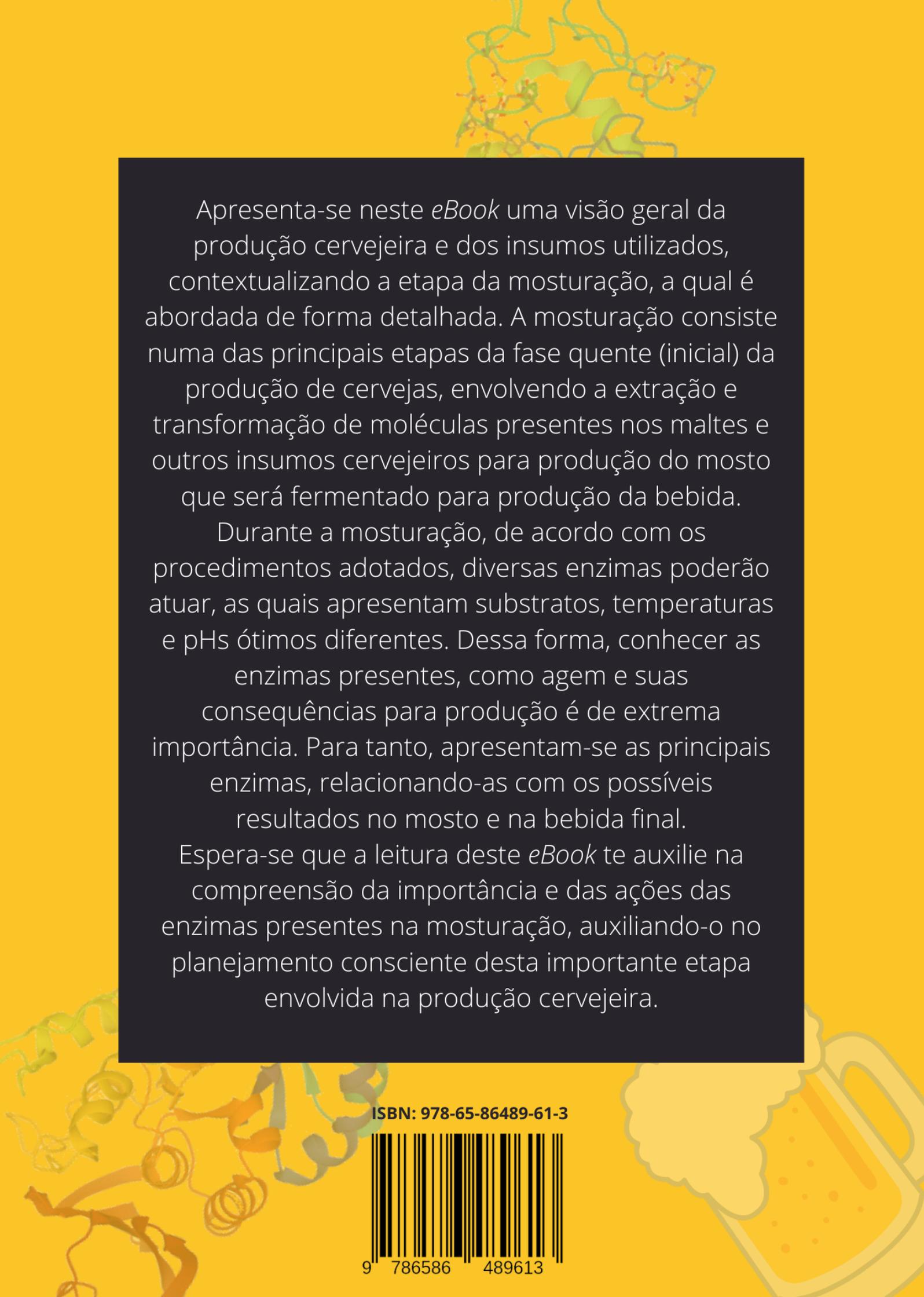
Amanda de Fátima Basso¹, George Augusto Valoso de Oliveira², Vivian Santana de Almeida³, Gabriel Gerber Hornik⁴, Bruno Martins Dala-Paula⁵

¹Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) - Instituto de Química, Instituto de Ciências Biológicas, Faculdade de Engenharia, 13130-001, Alfenas-MG, Brasil. *E-mail: basso.paula@unifal-mg.edu.br

Resumo

As cervejas são bebidas fermentadas, feitas de compostos fenólicos e flavonóides, com reconhecida função antioxidante. O objetivo deste trabalho foi determinar os teores totais desses compostos e o potencial antioxidante ao longo de diferentes etapas de produção de cerveja artesanal. As amostras foram analisadas por métodos espectrofotométricos, sendo analisadas dois tipos de malte de cevada (Lall *prima* e *dry malt extract*), diferentes técnicas de extração do líquido, duas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (S02 - secunda e W09 - terciária) e dois gravados específicos para cada amostra (2,00 g/L e 1,00 g/L). O *dry malt extract* apresentou maiores teores de flavonóides e fenólicos totais quando comparado ao *all grain*, sem diferença significativa para o potencial antioxidante. Os extratos de líquido obtidos por coação durante 10 e 60 min apresentaram os maiores teores de flavonóides, fenólicos e potencial antioxidante. De modo geral, o produto da fermentação da breuvana terciária apresentou teores superiores de flavonóides e fenólicos totais e potencial antioxidante, em relação ao fermento secundário.

Estamos sempre publicando novos materiais, nos acompanhe pelas redes sociais, participe do projeto e fique de olho em nosso site!

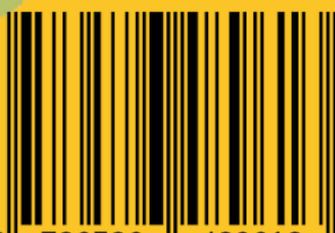


Apresenta-se neste *eBook* uma visão geral da produção cervejeira e dos insumos utilizados, contextualizando a etapa da mosturação, a qual é abordada de forma detalhada. A mosturação consiste numa das principais etapas da fase quente (inicial) da produção de cervejas, envolvendo a extração e transformação de moléculas presentes nos maltes e outros insumos cervejeiros para produção do mosto que será fermentado para produção da bebida.

Durante a mosturação, de acordo com os procedimentos adotados, diversas enzimas poderão atuar, as quais apresentam substratos, temperaturas e pHs ótimos diferentes. Dessa forma, conhecer as enzimas presentes, como agem e suas consequências para produção é de extrema importância. Para tanto, apresentam-se as principais enzimas, relacionando-as com os possíveis resultados no mosto e na bebida final.

Espera-se que a leitura deste *eBook* te auxilie na compreensão da importância e das ações das enzimas presentes na mosturação, auxiliando-o no planejamento consciente desta importante etapa envolvida na produção cervejeira.

ISBN: 978-65-86489-61-3



9 786586 489613