



**UnB - Universidade de Brasília**  
Instituto de Química



*Lourenço di Giorgio Silva Pinheiro*

***CARACTERIZAÇÃO E PROCESSAMENTO DE  
CEVADA CULTIVADA NO CERRADO BRASILEIRO***

***BRASÍLIA – DF***

***2016***



**UnB - Universidade de Brasília**  
Instituto de Química



*Lourenço di Giorgio Silva Pinheiro*

***CARACTERIZAÇÃO E PROCESSAMENTO DE CEVADA  
CULTIVADA NO CERRADO BRASILEIRO***

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química  
da Universidade de Brasília como parte do  
requisito para obtenção do título de Mestre em  
Tecnologias Químicas e Biológicas.*

*Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Grace Ferreira Ghesti*

*Brasília - DF*

2016

LOURENÇO DI GIORGIO SILVA PINHEIRO

# CARACTERIZAÇÃO E PROCESSAMENTO DE CEVADA CULTIVADA NO CERRADO BRASILEIRO

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Químicas e Biológicas.

Banca Examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nádia Parachin Skorupa – IB/UnB  
Examinadora Interna

---

Prof. Dra. Talita Souza Carmo- IB/UnB  
Examinador Externo

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Grace Ferreira Ghesti- IQ/UnB  
Presidente

Brasília, 10 de junho de 2016

*Eu dedico esse trabalho a todas as pessoas que fizeram e fazem parte da minha vida, seja nos bons e nos maus momentos, afinal existem momentos para nos trazer maturidade e momentos para nos trazer felicidade.*

*Lourenço di Giorgio Silva Pinheiro*

## Agradecimentos

Existem pessoas que passam por nossas vidas e deixam marcas, existem pessoas que passam por nossa vida e a mudam completamente. A todos que ajudaram a construir minha vida acadêmica, profissional e meu caráter eu deixo um grande abraço.

Em minha vida eu sempre tive uma figura que me guiou no difícil caminho que é a construção de nossa visão de mundo. Lembro de suas palavras, "é muito fácil julgar alguém e muito difícil entender seus motivos" a pessoa que mais me ajudou em meus momentos rebeldes eu deixo um grande abraço, todo meu amor a minha mãe.

A meu pai que por mais eu possa ter passado algum tempo longe dele em minha infância, eu enxergo parte da minha personalidade nele, eu deixo todo meu carinho pela forte ajuda que sempre representou no incentivo aos meus estudos.

A meu tio, querido companheiro e professor, eu deixo um abraço, nem todos têm a sorte que eu tive de ter dois pais, poucos homens que eu conheci tiveram a grandeza de assumir tantas responsabilidades quanto você, isso eu admiro e tento me espelhar.

A Dr<sup>a</sup> Grace, minha orientadora e amiga eu agradeço por todos os ensinamentos dentro e fora de sala ou laboratório. Existem professores que mudam sua forma de ver o mundo, minha orientadora não apenas fez isso ela me guiou no meio acadêmico, me ensinando mais do que eu podia imaginar sobre a prática da cerveja, mas também me mostrou que ninguém precisa deixar de ser um excelente ser humano para alcançar o sucesso profissional. Apesar de ser minha superior nunca deixou de me ouvir, me ajudar e me estimular seja em nossos trabalhos em parceria ou não, do fundo do meu coração um grande abraço.

A todos os meus irmãos, e familiares eu agradeço e deixo um muito obrigado, amo vocês. Maluzinha você e linda muito obrigado pelo apoio e palavras força, Marina melhor irmã companheira de viagem que você não há! Clarisse meu bem sua maturidade sempre me ajudou a ter um olhar para a frente e Andre meu irmão suas palavras por mais loucas que fossem sempre me guiaram para melhorar. Felícia, Guilherme e Raul, vocês podem não dividir sangue comigo, mas são meus eternos irmãos!

Um carinho especial a alguém que sempre estimulou meu preguiçoso estudo de línguas, Vick minha madrinha que sempre me estendeu a mão e esteve comigo em momentos familiares muito complicados, sempre ajudando a manter minha cabeça no lugar e amadurecer minha personalidade.

Um carinho muito especial a meus amigos Gustavo e Ugo, que trilharam comigo uma das partes mais rock'n'roll da minha vida. Lembro de cada garrafa envasada e cada suor pingado em nossas experiências e divertimentos! Vida longa, que nossas estrelas sempre brilhem, por mais que não moremos mais juntos, nossas vivências nunca se apagarão e sempre iremos em frente.

Ao doutorando Helder e o Dr Edivaldo deixo aqui minhas saudações e meus agradecimentos, sem seus conselhos e ajuda em laboratório minhas análises não seriam possíveis, minha gratidão não tem tamanho.

A minha querida amiga Mariane, o que falar. Meu orgulho é dizer que fui seu monitor, tenho sorte de trabalhar com tantas pessoas viciadas em trabalho! O que seria de nosso laboratório tão jovem sem o seu ímpeto e ajuda. Minha querida amiga sempre que precisar de minha ajuda conte comigo.

Uma pessoa que não participa tão ativamente do meu projeto, mas está comigo no laboratório, Dr Julio. Lembro até hoje de suas aulas, mesmo com diferenças eu acredito muito em seu estilo de dar aula, e não me lembro de uma aula em sua presença que sai sem ter aprendido,

Aos meus queridos colegas de trabalho deixo aqui meu agradecimento pela força e paciência. Viviane e Isabela vocês moram no meu coração. Fe sua risada sempre *alegrou* o laboratório. Elyane, Rafaelis e Jessica muito obrigado pela ajuda espero que vocês tenham aprendido tanto comigo quanto eu aprendi com vocês.

Dois amigos e companheiros de trabalho que eu admiro e agradeço a toda ajuda que me permitiu me dividir entre minhas tarefas, Tiago e Kaik vocês são incríveis!

A um amigo que não participou de absolutamente nada da parte técnica do meu projeto, mas que me permitiu conversas que me fizeram engrandecer de maneira que não consigo imaginar melhor as minhas ideias deixo um abraço, *valeu* Ronie.

*Alex Za, Andre e Lafeta.* Muito obrigado por me permitirem liberar meus sentimentos na forma de música, não sei se conseguiria enfrentar as loucuras do dia a dia se não tivesse o companheirismo de vocês para me ajudar a soltar tudo para fora da melhor forma artística que eu conheço, mudando as ondas sonoras a nossa volta!

A todos os professores, colegas de aula e colegas de universidade espero que todas os alunos possam contar com pessoas como as que eu tive, pois vocês me fizeram ser quem eu sou. Caamb, Antro e todos os meus amigos sempre terão um lugar na minha memória!

Agradeço a Universidade de Brasília por ter sido uma mãe para mim, me acolheu e me ensinou, lembro de uma citação do reitor Jose Geraldo, a universidade tem como objetivo integrar as pessoas e não marginaliza-las, nela podemos transformar um Pinóquio em gente. Quando estou montando minhas aulas sempre penso nisso, minha função e criar um ser pensante! Se esse era o intuito espero ter condições de condizer com suas expectativas!

Não posso deixar de mandar um abraço a um grande cientista a qual foi dada o nome de nosso campus devido a importância desse homem na construção da UnB, Darcy espero que um dia todos nós possamos ter a universidade necessária, seus sonhos fazem parte dos meus!

Em um momento político nacional tão intenso não posso deixar aqui de mencionar também uma grande mulher. Eu tive a sorte de conhecer Maria da Penha uma mulher de força que sobreviveu a violências que poucos aguentariam! A outra mulher injustiçada nesse país eu lhe deixo um beijo que nunca veras, Dilma se eu pudesse lhe dar um abraço pessoalmente eu lhe dava um beijo, força companheira!

Por fim um agradecimento a CAPES pelo fomento à pesquisa, e a agrícola Sempre Viva e InBev pelo gentil fornecimento de cevada para o projeto!

Um abraço e força a todos!

*“A nossa capacidade de enxergar a realidade será  
nosso passaporte de liberdade, out a babyblon!  
Priorize as prioridades, camaradagem priorize o  
que fara diferença na sua passagem! ”  
B Negão e os Seletores de Frequência*

## Resumo

O Brasil é consolidado um dos maiores produtores de cerveja do mundo, apresentando a terceira maior produção mundial. Um movimento internacional colocou as microcervejarias em evidência aumentando ainda mais a demanda por malte, um dos principais insumos utilizado na indústria cervejeira. Não apenas se tratando de quantidade, mas também de qualidade, as cervejarias especiais adicionam a produção de cerveja a necessidade de matérias-primas diferenciadas, uma vez que exigem produtos de qualidade superior para ingressar no mercado. A fim de expandir o cultivo de cevada pelo território nacional, auxiliar nas questões de logística de abastecimento de insumos para a indústria cervejeira e produzir maltes de qualidades diferenciadas, uma opção viável é o cultivo desse cereal na região Centro-Oeste. Sua agricultura mecanizada permite o cultivo sob regime de irrigação artificial. O objetivo desse trabalho foi avaliar os parâmetros de malteação para desenvolver uma metodologia adequada do processo utilizando a cevada cultivada no Cerrado brasileiro. Dessa forma, foi realizado de maneira pioneira ensaios de malteação com o cereal em questão. Para isso, foram realizadas análises da cevada e do malte produzido em termos bioquímicos, químicos e físicos a fim de comparação com dados da literatura. A primeira variedade estudada em um cultivo sem irrigação apresentou contaminação fúngica excessiva, não sendo possível seu processamento para a indústria alimentícia. A cevada cultivada irrigada artificialmente foi malteada de maneira exclusiva afim de permitir o desenvolvimento de um malte adequado para a produção de cerveja. Ao final do processamento, foram obtidos dois maltes, M1 e M2, que apresentaram, respectivamente, 50% e 48% de extrato (43% malte comercial) e coloração de 12 e 15 EBC (7 EBC malte comercial). Em termos de atividade enzimática, a enzima  $\beta$  amilase foi observado 20,3 UI (M1), 21,4 UI (M2) e 21 UI (malte comercial), em relação a enzima  $\alpha$  amilase foi observado 3,25 UI (M1), 2,5 UI (M2), 16,3 UI (malte comercial). Como os maltes especiais, que apresentam coloração superior a 20 EBC, não apresentam taxas significantes de sacarificação, a cevada e os maltes produzidos podem ser utilizados pela indústria cervejeira para essa finalidade, agregando a região Centro-Oeste o cultivo de novas variedades de cereais que apresentam alto valor agregado após malteação, segmento pouco desenvolvido no Brasil.

Palavras-chave: tecnologia de malteação, cevada, ensaios enzimáticos, tecnologia cervejeira, malte.

## Abstract

Brazil is amongst the larger beer producers in the world with the third largest production. International interest placed micro beer producers on center stage further increasing the demand for malt, one of the main inputs of the industry. As an issue not only of quantity but also of quality, cottage beer industries require special, above average ingredients to enter the market. In order to expand barley plantations in the country, provide support to improvement of the logistic issues involved in supplying inputs to the industry and produce malts of differing qualities, a feasible option is the growing the cereal in the Centre-West. It's mechanical agriculture allows for artificial irrigation. The objective of this work was to evaluate malting parameters for the development of and adequate process methodology applied to barley grown in the Brazilian Cerrado. To this end, biochemical, chemical and physical analyses were made on both barley and malt and then data was compared with existing literature. The first variety studied in a non-irrigated setting revealed an excessive fungi contamination and could not be used by the food industry. The artificially irrigated barley was malted in an exclusive manner so as to provide a malt for the beer production. At the end of processing, two malts were obtained, M1 e M2, presenting 50% and 48% de extract each (43% commercial malt) and coloring of 12 and 15 EBC (7 EBC commercial malt). In terms of enzymatic activity, the enzyme  $\beta$  amylase was observed 20,3 UI (M1), 21,4 UI (M2) and 21 UI (commercial malt), and in relation to enzyme  $\alpha$  amylase observed was 3,25 UI (M1), 2,5 UI (M2), 16,3 UI (commercial malt). As the special malts, that present coloring above 20 EBC, do not have significant sugar leves, the barley and malts produced may be used by the beer industry, enriching Centre-West agriculture with new grain varieties that may have value added after malting, also contributing to an underdeveloped commercial segment in Brazil.

Keywords: malting technology, barley, enzyme assays measure, brewing technology, malt.

## Sumário

Lista de Abreviaturas e Acrônimos.....	xii
Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Figuras.....	xiv
Glossário.....	xvi
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	18
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. Objetivo Geral.....	20
2.2. Objetivos Específicos.....	20
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1. Aspectos Históricos.....	21
3.2. Cenário atual do mercado.....	22
3.3. Aspectos bioquímicos.....	24
3.3.1. Amido.....	24
3.3.2. Enzimas.....	26
3.4. Cevada.....	29
3.5. Processo de produção do malte.....	32
3.5.1. Maceração.....	32
3.5.2. Germinação.....	35
3.5.3. Secagem.....	38
3.6. Processo de produção da cerveja.....	41

3.6.1. Mosturação .....	41
3.6.2. Fervura .....	45
3.6.3. Fermentação.....	48
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	50
4.1 Análises da cevada .....	50
4.1.1. Poder germinativo, energia germinativa e sensibilidade a água.....	50
4.1.2. Umidade .....	51
4.1.3. Produção do malte.....	51
4.2. Análises do malte.....	52
4.2.1. Atividade enzimática.....	52
4.2.2 Determinação de extrato, coloração e proteína solúvel.....	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	56
5.1 - Resultados da CEV 01.....	56
5.2 - Resultados da Cevada.....	58
5.3 Resultados da Malteação.....	60
5.4 - Resultados do Malte .....	65
5.5 – Proposta de uso.....	68
6. CONCLUSÕES .....	69
7. REFERÊNCIAS.....	71
ANEXO I.....	75
ANEXO 2.....	75

## Lista de Abreviaturas e Acrônimos (Ordem alfabética)

ASBC: *American Society of Brewing Chemists*

EBC: *European Beer Color*

CEV 01: cevada cultivada em 2014 em São Gabriel-GO sem irrigação artificial.

DMS: Dimetil Sulfeto

DMSO: dimetilSulfóxido

DNS: Ácido 3,5- dinitrosalicílico

IBU: *International Bitterness Unit*

UI: Unidade Internacional definida no trabalho como  $\text{mmol de maltose} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$

M1: cevada cultivada em 2015 no DF a qual foi exposta a todos os procedimentos de malteação conforme Tabela 3.

M2: cevada cultivada em 2015 no DF a qual foi exposta a todos os procedimentos específicos de malteação conforme Tabela 3.

SMM: S-metilmethionina

## Lista de Tabelas

TABELA 1. COMPOSIÇÃO DO GRÃO DE CEVADA SECO. <sup>7</sup> .....	31
TABELA 2. ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS PRINCIPAIS ENZIMAS ATUANTES NA MOSTURAÇÃO DURANTE O PROCESSO DE PRODUÇÃO DE CERVEJA. <sup>7</sup> .....	42
TABELA 3. PERÍODOS INTERCALADOS NA MACERAÇÃO DA CEVADA. ....	51
TABELA 4. VALORES DE UMIDADE, PODER GERMINATIVO, ENERGIA GERMINATIVA E SENSIBILIDADE A ÁGUA DA CEVADA. ....	56
TABELA 5. VALORES DE UMIDADE DO MALTE REFERENTES AO PROCESSO DE MACERAÇÃO..	60
TABELA 6. VALORES DE EXTRATO, PROTEÍNA SOLUVEL E COLORAÇÃO PARA OS MALTES, M1, M2 E MALTE COMERCIAL ANALISADO PARA COMPARAÇÃO. ....	66

## Lista de Figuras

FIGURA 1. ESTRUTURA DA AMIOLOSE (A) E DA AMILOPECTINA (B). <sup>20</sup> .....	25
FIGURA 2. ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DE UMA ENZIMA A AMILASE. O DOMÍNIO A REPRESENTADO PELA HÉLICE EM AZUL ESCURO, E FOLHAS B E BOBINAS ALEATÓRIAS EM AZUL CLARO. O DOMÍNIO B EM AMARELO E O DOMÍNIO C EM VERDE. O SITIO ATIVO ESTÁ NA FENDA ENTRE OS DOMÍNIOS A E B. <sup>26</sup> .....	26
FIGURA 3. RELAÇÃO ENTRE O RENDIMENTO DA REAÇÃO E A CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO PARA O AMIDO E A ENZIMA A AMILASE. <sup>27</sup> .....	27
FIGURA 4. ELUCIDAÇÃO DO ATAQUE ENZIMÁTICO DA B AMILASE NA CADEIA DE AMIOLOSE. GERA COMO PRODUTO MALTOSE E UM CARBOIDRATO DE CADEIA MENOR QUE O ORIGINAL.....	28
FIGURA 5. CEVADA DE 2 GRÃOS POR FILEIRA (ESQUERDA) E DE 6 GRÃOS POR FILEIRA (DIREITA). <sup>31</sup> .....	30
FIGURA 6. DIAGRAMA ANATÔMICO DO GRÃO DE CEVADA. <sup>22</sup> .....	31
FIGURA 7. DIAGRAMA EXPLICATIVO DAS ETAPAS DE MACERAÇÃO. ....	33
FIGURA 8. GRÃO DE CEVADA GERMINADA E SUAS IMPRESSÕES ÓTICAS DURANTE A MALTEAÇÃO. <sup>37</sup> .....	34
FIGURA 9. CEVADA GERMINADA COM DIFERENTES FORNECIMENTOS DE SUBSTÂNCIAS GASOSAS. <sup>41</sup> .....	36
FIGURA 10. CONJUNTO DE REAÇÕES DE MAILLARD. <sup>46</sup> .....	40
FIGURA 11. REAÇÃO DE I <sub>2</sub> COM AMIDO PRESENTE NO MOSTO CERVEJEIRO. LEGENDA : A - MOSTO COM ALTO TEOR DE AMIDO, TESTE POSITIVO; B - MOSTO APRESENTA POUCA QUANTIDADE DE AMIDO; C - MOSTO NÃO APRESENTA QUANTIDADE SIGNIFICANTE DE AMIDO, TESTE NEGATIVO. <sup>50</sup> .....	44

FIGURA 12. PROCESSO DE SACARIFICAÇÃO DO AMIDO DA CEVADA DURANTE A PRODUÇÃO DE CERVEJA. <sup>7</sup> .....	44
FIGURA 13. ESTRUTURA QUÍMICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NAS CAS CASCAS DO MALTE. <sup>47</sup> .....	45
FIGURA 14. CORTE LONGITUDINAL DAS FLORES FÊMEAS DE LÚPULO, OBSERVANDO-SE NO INTERIOR AS GLÂNDULAS QUE CONTÉM OS A-ÁCIDOS. <sup>51</sup> .....	46
FIGURA 15. ISOMERIZAÇÃO DE A-ÁCIDOS EM ISO- A-ÁCIDOS E SEUS DERIVADOS. <sup>51</sup> .....	47
FIGURA 16. FORMAÇÃO E ABSORÇÃO DO ACETALDEÍDO DURANTE A FERMENTAÇÃO. <sup>55</sup> .....	49
FIGURA 17. TEOR DA UMIDADE DA CEVADA EM RELAÇÃO A TEMPO DURANTE A ETAPA DE MACERAÇÃO. LEGENDA: AZUL REPRESENTA O M1, LARANJA REPRESENTA O M2. ....	61
FIGURA 18. MALTE VERDE APÓS GERMINAÇÃO DO M1. ....	62
FIGURA 19. MALTE VERDE APÓS GERMINAÇÃO DO M2. ....	63
FIGURA 20. EFICIÊNCIA ENZIMÁTICA DE M1 E M2 PARA A E B AMILASE. LEGENDA: CINZA: ENZIMAS B AMILASE DO M1; AMARELA: ENZIMAS B DO M2; AZUL, ENZIMAS A AMILASE DO M1; LARANJA, ENZIMAS A AMILASE DO M2.....	65

## Glossário

**Mosto:** Solução líquida preparada a partir de infusão de malte e adjuntos em água.

**Sacarificação:** Processo onde a solução de amido perde viscosidade devido à degradação enzimática do amido.

**Extrato:** a percentagem em massa que foi dissolvida no mosto oriunda do malte ou adjuntos durante o processo cervejeiro. Sendo assim, utilizando 1 kg de malte com extrato a 70%, é observado 700 g de substâncias solúveis no mosto.

**Malte verde:** a cevada que se encontra em processo de malteação, pós-germinação, porém não foi submetido à etapa de secagem.

**Malte base:** cevada após processo de malteação que apresenta coloração inferior a 20 EBC e alto poder diastático, sendo crucial para o processo cervejeiro (conversão de amido em açúcares fermentescíveis e proteínas em aminoácidos).

**Maltes especiais:** cevada após processo de malteação que apresenta coloração acima de 20 EBC, baixo ou nulo poder diastático, contribuindo para características organolépticas diferenciadas para a cerveja.

**Açúcares redutores/fermentescíveis:** são os açúcares que apresentam caráter redutor em uma solução aquosa, formado por carboidrato de poucos monômeros, são metabolizados pela levedura cervejeira.

**Sala de brassagem:** local da fábrica de produção de cerveja onde o mosto é preparado, sendo necessários os devidos equipamentos cervejeiros.

**Caldeira:** equipamentos de aço inox onde o mosto é preparado e fervido. Está presente na sala de brassagem e é onde se mede o extrato final para para que seja avaliado o rendimento de solubilização do processo.

**Eficiência de brassagem:** teor de extrato que foi obtido durante a produção de cerveja a qual revela o rendimento do processo por meio da medição de extrato real e conferência com a receita cervejeira.

**Trub:** Existem dois tipos de trub, o trub frio e o trub quente. Os dois são formados devido à coagulação de proteínas (em fase quente ou fase fria) e a sua complexação com compostos fenólicos presentes no mosto. Sua formação/remoção deixa a cerveja mais límpida e agradável após retirado.

Levedura cervejeira/ fermento cervejeiro: É um fungo unicelular que metaboliza nutrientes e promove a fermentação alcoólica. Majoritariamente, pertencente ao gênero *Saccharomyces* sendo as espécies mais comuns *S. cerevisiae*, *S. uvarum* e *S. carlsbergensis*.

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo com um volume superando os 12 milhões de litros.<sup>1</sup> O crescimento da produção acompanha uma mudança no cenário comercial onde as microcervejarias começam a participar dos lucros do segmento.<sup>2</sup>

Junto ao desenvolvimento, surgem demandas relacionadas a produção nacional de malte tipo *Pilsen* e especiais necessários para atender cervejarias que produzem diferentes estilos cervejeiros. Atualmente, a indústria nacional não é capaz de suprir a demanda existente o que faz do Brasil um grande importador de malte, tanto *Pilsen* como especiais (Anexo I), porém a carência por maltes especiais é mais expressiva. A consolidação da tecnologia de malteação brasileira, em termos de abastecimento de malte, necessita de pesquisas que viabilizem a criação de novos produtos ou que reduzam o tempo dos processos convencionais para que possam atender as novas demandas do mercado cervejeiro.

O cultivo de cevada vem crescendo na região Centro-Oeste devido a mecanização dos cultivos e estudos de linhagens adequadas para a região.<sup>3-4</sup> Uma vez que a produção de malte é uma opção para o aumento do valor agregado da cevada, existe o interesse em consolidar uma metodologia adequada para malteação do grão de cevada cultivado no Centro-Oeste. Sabe-se que este cereal todavia não apresenta a qualidade desejada para a malteação visando o mercado cervejeiro.<sup>3</sup> Pois, para que a cevada esteja dentro dos parâmetros da legislação é necessária que ela apresente teor de proteína menor que 12%.<sup>4</sup>

Segundo a legislação brasileira, Lei No 8.918, de 14 de julho de 1994, cerveja é a bebida fermentada oriunda de malte de cevada, com adição de lúpulo e ação de fermento cervejeiro. O malte é um insumo indispensável para a produção da bebida, sendo necessário no mínimo 45% (m/m) de extrato primitivo oriundo de malte de cevada. A mesma lei também define malte de cevada como sendo o produto obtido a partir da germinação e secagem do grão de cevada.<sup>4</sup>

Essa dissertação é um trabalho pioneiro, o qual engloba a inclusão de um novo cereal no cenário agropecuário da região Centro-Oeste, cevada para fins cervejeiros,

a fim de abastecer um mercado em amplo crescimento. Sendo assim, apresentou como objetivo criar uma metodologia específica para maltear a cevada cultivada na região utilizando como base análises da cevada e do malte produzidos em escala laboratorial. Os dados gerados foram comparados com maltes comerciais em circulação nacional e com dados da literatura, para assim otimizar o processo e definir uma metodologia de malteação adequada para se produzir malte com características cervejeiras.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

O objetivo do trabalho é desenvolver uma metodologia adequada para o bioprocessamento da cevada cultivada no Centro-Oeste e agregar valor ao cereal, um produto novo gerado no Centro-Oeste, inserindo-o em um novo mercado com o título de malte de qualidade cervejeira. O desafio se apresenta no caráter diferenciado da cevada da região, a qual possui características peculiares e que devem ser estudadas a fim de serem utilizadas no processo de malteação para comercialização.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Caracterizar as cevadas cultivadas no Centro-Oeste: plantio irrigado e natural;
- Realizar os ensaios de malteação e avaliar parâmetros ao longo do processo;
- Avaliar a atuação das enzimas amilases ao longo da germinação e na elaboração do mosto Kongress;
- Comparar o malte comercial em circulação nacional com o malte produzido a partir da cevada cultivada no Centro-Oeste;
- Recomendar o processo de malteação a fim de obter o malte com boa eficiência enzimática e friabilidade;
- Recomendar adequações ao processo cervejeiro a fim de obter os melhores resultados a partir do malte obtido.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Aspectos Históricos

A produção de bebidas alcoólicas fermentadas oriundas de grãos data de mais de 8.000 anos a.C pela civilização sumeriana.<sup>6</sup> No antigo Egito, 5.000 anos a.C, a cevada já representava o grão de maior utilização para a produção de bebidas alcoólicas. Apenas 6.000 anos depois, na Idade Média, o lúpulo começa a fazer parte das receitas cervejeiras. Em 1.516, na região da Baviera, surgiu a Lei de Pureza Alemã que determinou os ingredientes para a produção de cerveja, os quais são: água, malte, lúpulo e fermento.<sup>7</sup>

Em 1.873, Lindle desenvolveu o primeiro frigorífico na Alemanha. Dessa forma, ele permitiu a produção de cervejas de baixa fermentação que exigiam refrigeração para sua adequada fermentação durante o ano todo, aprimorando a indústria cervejeira, na produção da cerveja do tipo *lager*.<sup>7</sup>

Em 1.883, Emil Hanser, na Dinamarca, começou o primeiro cultivo puro de leveduras, criando o mercado de fermentos cervejeiros, permitindo que a produção da bebida fosse padronizada e os aromas e gostos apresentassem reprodutibilidade.<sup>7</sup>

Em 1976, Pasteur apresentou sua obra "Estudos sobre a cerveja" e abriu o campo do conhecimento sobre fermentação, fundamentando princípios de microbiologia e higienização, bem como a criação de uma técnica de conservação para o produto, a pasteurização.<sup>7</sup>

A fermentação alcoólica é um dos primeiros indícios de biotecnologia na história da humanidade. Porém, a produção de malte envolve a germinação de grãos e nos aspectos da linhagem histórica da cerveja, a produção de malte se desenvolve simultaneamente com a da bebida.<sup>7</sup>

### 3.2. Cenário atual do mercado

O Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, ficando atrás respectivamente da China e EUA. A produção nacional da bebida em 2013 superou os 12 milhões de litros.<sup>1</sup> O setor cervejeiro emprega cerca de 2,7 milhões de pessoas no Brasil, estima-se que para cada pessoa empregada na fábrica de cerveja outros 52 empregos são gerados indiretamente. O setor representa 2,0% do PIB nacional mostrando assim sua relevância e importância para a economia nacional. Um reflexo desses dados são os investimentos na área, 17 bilhões de reais entre 2010 e 2013.<sup>8</sup>

A maior parte da produção brasileira de cerveja está no Sudeste e Nordeste, porém existem apenas três grandes maltarias no Brasil que ficam no Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo, ou seja, nas regiões Sudeste e Sul do país.<sup>9</sup> Dessa forma, é de interesse econômico e tecnológico o desenvolvimento do setor malteiro na região Centro-Oeste a fim de facilitar a logística e reduzir custos com matéria-prima.<sup>9</sup>

Um movimento similar de expansão do cultivo de cereais foi observado na década de 70, com a soja. Inicialmente, somente se cultivava soja nas regiões Sul e Sudeste do país. Porém, condições climáticas e disponibilidade de terras para cultivo, fizeram que produtores rurais migrassem para a região Centro-Oeste a fim de explorar o cerrado com o novo cultivo, a soja. Os primeiros anos envolveram muita pesquisa e investimento para buscar produtividade e produto de qualidade a fim de concorrer com os que já eram produzidos nas regiões de origem. Atualmente, o Centro-Oeste apresenta produtividade superior a região Sul e está menos susceptível a variações climáticas, o que reduz a quantidade de riscos de fracasso ao cultivo.<sup>4</sup>

A produção de grãos no Brasil sempre esteve setorizada e sua maior concentração se encontrava na região Sul.<sup>10</sup> Em 2014, com a mecanização da região Centro-Oeste, essa passou a representar maior parte da produção nacional de sementes. A produção de grãos, leguminosas e oleaginosas da região Centro-Oeste foi 40,9% da produção nacional superando os 38,1% da região Sul.<sup>9</sup> Esses fatos em conjunto fazem do malte um produto industrializado de importância para o crescimento

da economia nacional, principalmente regional quando se fala em atrair o mercado malteiro para a região.

A região Sul conta com um clima temperado favorável e geadas anuais para o cultivo de cevada, mas a irrigação automatizada permitiu o cultivo de trigo e cevada na região Centro-Oeste. Alguns fatores como o solo argiloso e a épocas de chuva complicam o cultivo da cevada, mas a tecnologia aplicada permite o cultivo com características cervejeiras, com teor de proteína abaixo dos 14%.<sup>3</sup>

Sendo assim, o Centro-Oeste se apresenta como uma oportunidade de cultivo e malteação de cevada, uma vez que existe grande demanda do mercado cervejeiro e a agronomia mecanizada permite o cultivo irrigado da cevada.<sup>3</sup> Porém, a região carece de recursos humanos para trabalhar com a cevada, uma vez que o único curso de capacitação sobre o assunto e na região Sudeste realizado pelo Senai RJ Vassouras, Rio de Janeiro. A produção de literatura sobre ensaios com esses grãos é de extrema importância para consolidar o conhecimento e otimizar as utilizações industriais no setor.

Com a crescente participação das microcervejarias e ampliação das grandes cervejarias no mercado nacional,<sup>2</sup> se faz necessário a produção de maltes que possam atender a demanda correspondente de cerveja.<sup>12</sup> Em Anexo I, há uma Tabela mostrando os principais maltes e suas características os quais são mais empregados na indústria cervejeira.

Atualmente, o Brasil importa mais malte que produz, causando uma grande dependência do mercado externo. Os maiores fornecedores de malte para o Brasil são: Argentina, Uruguai, Paraguai e Alemanha. As maltarias nacionais somente produzem malte tipo *Pilsen*, importando os demais maltes necessários para atender o mercado. Para reduzir a dependência internacional e atender o mercado nacional, é necessário o conhecimento sobre o processo de malteação, a disponibilidade de cevada com qualidade cervejeira e adequação do processo de malteação tradicional.

Quanto à necessidade de qualidade do malte, existe uma variedade de maltes que se diferenciam quanto à sua coloração e sabores (Anexo I).<sup>13</sup> No Brasil, o processo se resume a produção comercial de malte *Pilsen*, o qual está de acordo com o mercado nacional cervejeiro, uma vez que o maior volume de produção de cerveja são os conhecidos como “*mainstream*”, ou seja, as “*cervejas principais*” as quais são classificadas como cerveja tipo *Pilsen*.

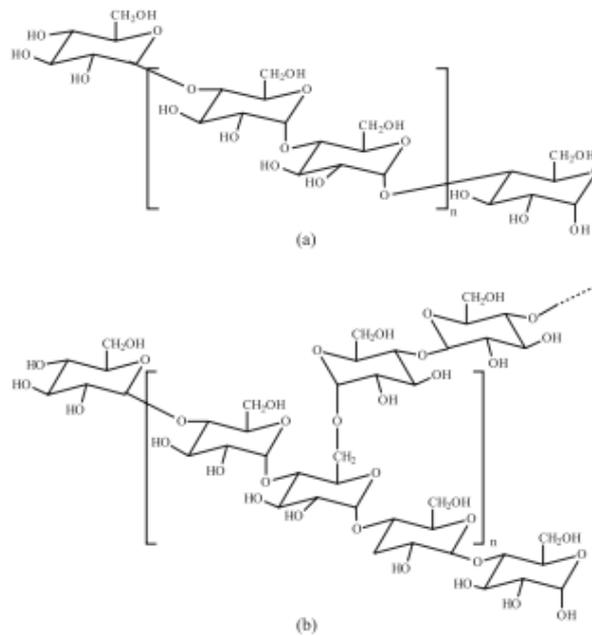
### 3.3. Aspectos bioquímicos

#### 3.3.1. Amido

O amido é o carboidrato mais abundante como reservas energéticas das plantas.<sup>14</sup> Além disso, ele representa uma forma natural de obtenção de energia para a nutrição humana. O amido possui diversas utilizações na indústria, como polímero termoplástico<sup>15</sup> e também é empregado como uma fonte de carboidratos para a fermentação alcoólica.<sup>15</sup> Está presente principalmente em sementes de cereais, caules de tubérculos e raízes de armazenamento. No caso da cevada, entre 50 e 75% de seu peso corresponde a amido.<sup>14</sup>

É um biopolímero, cujo monômero são moléculas de glicose.<sup>17</sup> O tamanho da estrutura do amido é variável e apresenta ligações entre as moléculas de glicose entre os carbonos  $\alpha$  -1,4 ou entre os carbonos  $\alpha$  -1,6 da cadeia.<sup>18</sup>

As ligações glicosídicas entre os carbonos  $\alpha$  -1,4 entre as moléculas de glicose são as responsáveis pela cadeia linear do amido, formando o polímero conhecido como amilose, que não possui ramificações. Por sua vez, as ligações glicosídicas entre os carbonos  $\alpha$ -1,6 de moléculas de glicose estão presentes nas ramificações da cadeia de amido, dando origem ao polímero chamado de amilopectina,<sup>19</sup> como pode ser observado na **Figura 1**.



**Figura 1.** Estrutura da amilose (a) e da amilopectina (b).<sup>19</sup>

A amilopectina (cerca de 75%) está presente em maior quantidade no amido que a amilose na cevada. A porcentagem entre as duas formas de cadeia depende da origem botânica. Cerca de 95% das ligações glicosídicas presentes no amido são entre os carbonos  $\alpha$ -1,4 de moléculas de glicose.<sup>19</sup> Uma forma de separar os polímeros do amido é por diluição uma vez que amilopectina representa a fração insolúvel do amido, enquanto a amilose representa a fração solúvel do amido em fase aquosa.<sup>21</sup>

Na produção de cerveja, o amido possui um papel muito importante. Além de estar diretamente relacionado ao fornecimento de substrato para a produção alcoólica, contribui diretamente para o corpo da cerveja, e conseqüentemente, a sua classificação conforme tipo de cerveja segundo legislação vigente e órgãos responsáveis pela tipificação de cerveja.<sup>22</sup>

Como as leveduras *Saccharomyces* sp. que são utilizadas na produção de cerveja, responsáveis pela conversão de açúcares em álcool, esses microorganismos não são capazes de metabolizar o amido, sendo necessário promover a degradação do amido para açúcares redutores antes da etapa fermentativa.<sup>23</sup>

### 3.3.2. Enzimas

As enzimas são conhecidas como proteínas funcionalizadas com ações de catalisadores biológicos,<sup>23</sup> com exceção de algumas moléculas de RNA que apresentam também atividade enzimática.<sup>24</sup> As enzimas possuem sítios ativos que interagem com os substratos, os quais são responsáveis pela catálise de reações químicas. Sendo assim, para que o sítio ativo possa interagir adequadamente com o substrato, é necessário que a enzima esteja com a conformação espacial adequada. A **Figura 2** representa a estrutura tridimensional de uma enzima  $\alpha$  amilase.

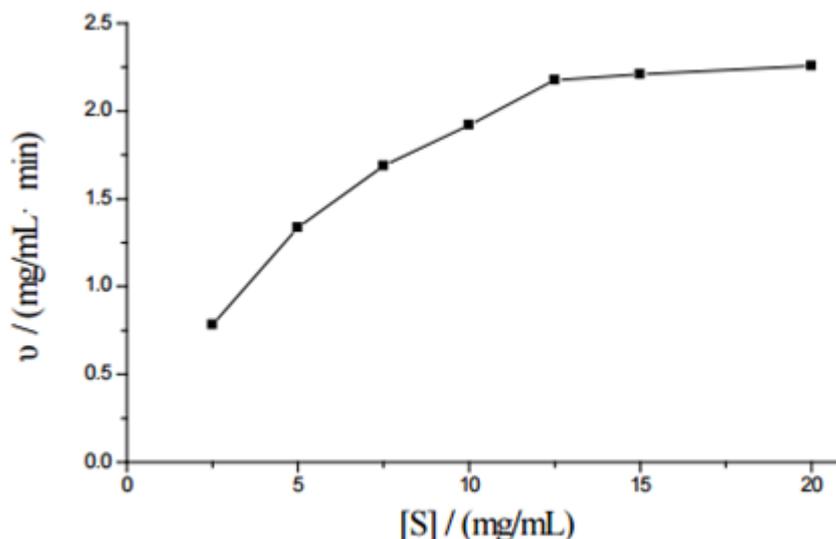


**Figura 2.** Estrutura tridimensional de uma enzima  $\alpha$  amilase. O domínio A representado pela hélice em azul escuro, e folhas  $\beta$  e bobinas  $\alpha$  em azul claro. O domínio B em amarelo e o domínio C em verde. O sítio ativo está na fenda entre os domínios A e B.<sup>25</sup>

Alguns parâmetros influenciam a catálise enzimática: pH, temperatura, concentração de substrato e concentração de enzimas.<sup>23</sup> A equação de Michaelis-Menten é utilizada para estudar a relação entre a velocidade da reação e a concentração de substrato.<sup>26</sup>

A **Figura 3** mostra o estudo realizado sobre a cinética da reação da enzima  $\alpha$  amilase, o qual elucidava a relação entre açúcares redutores formados por minuto pela concentração de amido. Foi observado um crescimento da atividade enzimática da  $\alpha$

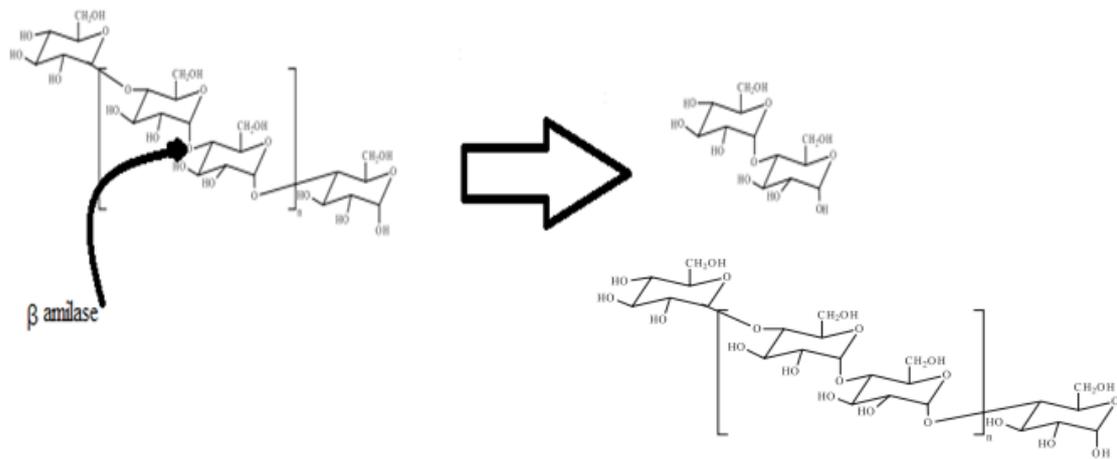
amilase em relação a concentração de substrato até um limite próximo aos 15 mg/mL, posteriormente a atividade enzimática se manteve constante.<sup>26</sup>



**Figura 3.** Relação entre o rendimento da reação e a concentração de substrato para o amido e a enzima  $\alpha$  amilase.<sup>27</sup>

Nesse trabalho foi enfatizado o estudo das enzimas amilases, responsáveis pela hidrólise de amido em mono, di, tri e oligossacarídeos. Duas enzimas serão o enfoque: a enzima  $\beta$  amilase e a enzima  $\alpha$  amilase.

A enzima  $\beta$  amilase possui atividade exoamilolítica, ou seja, ela hidrolisa as cadeias de amido a partir das extremidades,<sup>27</sup> somente nas ligações  $\alpha$ -1,4 entre carbonos, tendo como produto final dímeros de glicose, as maltoses. Como observado na **Figura 4**. Esse açúcar redutor gerado está diretamente relacionado a concentração de álcool na produção de cerveja, sendo o principal açúcar consumido pelas leveduras *Saccharomyces* sp. durante a produção de cerveja.



**Figura 4.** Elucidação do ataque enzimático da  $\beta$  amilase na cadeia de amilose. Gera como produto maltose e um carboidrato de cadeia menor que o original.

Por sua vez, a enzima  $\alpha$  amilase é uma endohidrolase. Ou seja, ela reage no interior do amido,<sup>7</sup> também somente nas ligações  $\alpha$ -1,4 entre carbonos, liberando produtos maiores que dímeros. O tamanho do carboidrato resultante da hidrólise da enzima  $\alpha$  amilase com o amido, depende da região da cadeia do amido onde está acontecendo a interação com a enzima. Esses carboidratos de tamanho intermediário são chamados de dextrinas e são responsáveis pelo corpo/dulçor da cerveja, uma vez que não são metabolizados pelas leveduras *Saccharomyces* sp.<sup>27-28</sup>

A enzima  $\alpha$  amilase tem como cofator o íon  $\text{Ca}^{2+}$ . A dependência da atividade enzimática com o cátion  $\text{Ca}^{2+}$  já foi estudada em diferentes isoformas por Bush.<sup>29</sup> Algumas isoformas são mais dependentes do cálcio que outras, porém com um substrato deficiente de  $\text{Ca}^{2+}$ , observou-se a inatividade das enzimas formadoras de dextrinas.<sup>27</sup>

### 3.4. Cevada

A cevada (*hordeum vulgare*) é da família das gramíneas. Atualmente, representa o quinto lugar em volume de colheita e importância econômica em nível mundial. Possui uma vasta utilização na indústria, desde insumo para fermentação (cervejas e whisky), produção de farinhas para panificação e ainda substituto para o café (produtos descafeinados).<sup>13</sup>

A cevada pode ser qualificada como cevada de inverno e cevada de primavera/verão de acordo com o autor. A cevada de primavera é mais sensível ao gelo durante a colheita, enquanto a cevada de inverno apresenta maior suscetibilidade a fenômenos de esterilidade durante a primavera.<sup>29</sup>

Ainda, pode-se diferenciar a cevada de 2 grãos ou 6 grãos por fileira na espiga. A cevada de 2 grãos possui individualmente seus grãos mais densos do que na cevada de 6 grãos, apresentando uma relação carboidrato/proteína na semente superior. Devido à sua alta densidade, a cevada de 2 grãos inclina sua planta e é a mais indicada para a produção de cerveja.<sup>30</sup>

A cevada de 6 grãos possui menor teor de amido em relação a de 2 grãos, ocasionando em um menor rendimento de caldeira por apresentar na etapa final menor concentração de oligômeros de glicose solúveis. Porém, a cevada de 6 grãos pode ser empregada na produção de malte cervejeiro, mas haverá aspectos econômicos associados quando empregadas no processo. Sendo assim, por apresentar um menor valor tecnológico e, conseqüentemente, comercial não é utilizada na indústria cervejeira de grande porte e sim na indústria alimentícia.<sup>7</sup>

A composição, com ênfase na relação carboidrato/proteína, da cevada de 2 grãos é considerada ideal para a produção de cerveja, sendo conhecida assim como a cevada cervejeira. A **Figura 5** diferencia as cevadas, a nível fisiológico, de 2 e de 6 fileiras.

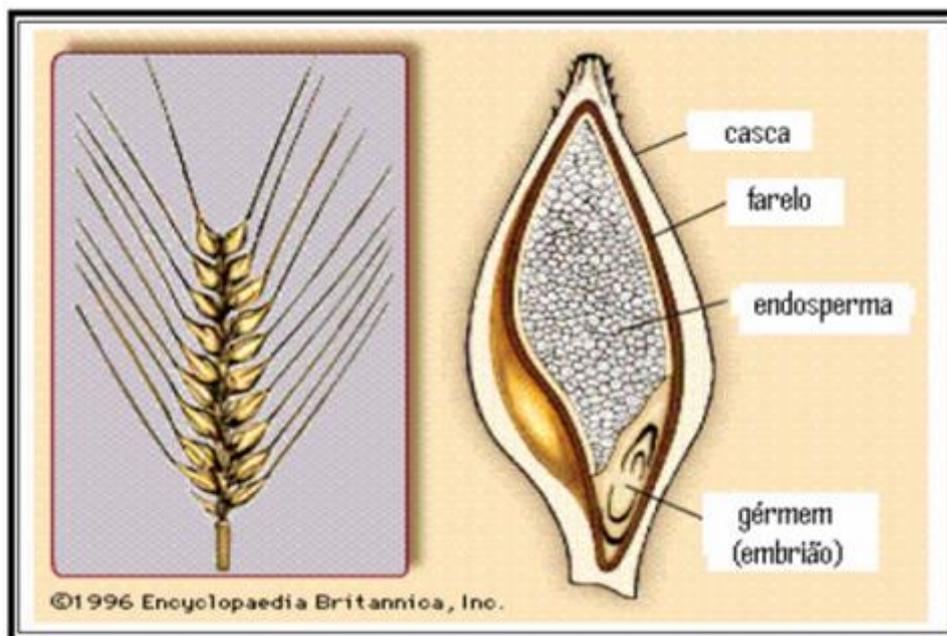


**Figura 5.** Cevada de 2 grãos por fileira (esquerda) e de 6 grãos por fileira (direita).<sup>31</sup>

O grão de cevada possui um reservatório de amido, chamado de endosperma, o qual corresponde de 70 a 80% do peso da semente. Os grânulos de amido são revestidos por hemicelulose e protoplasma (proteínas).<sup>31</sup>

Na parte inferior do grão está situado o embrião o qual é responsável pela germinação e posterior formação da planta. É a parte viva da semente. O embrião representa 3% do peso da semente, e possui sua composição estimada de 25% de lipídeos, 10% de proteínas, 10% de sacarose e 5% de sais minerais, principalmente, fósforo e potássio.<sup>31</sup>

A **Figura 6** mostra o corte longitudinal do grão da cevada, com sua casca nas extremidades, endosperma na parte central e o embrião na parte inferior do grão. A Tabela 1 mostra as concentrações médias da composição da cevada cervejeira. A relação carboidrato e proteínas permite um balanço para a formação da espuma e de uma adequada fermentação durante a produção produtivo cervejeiro.<sup>21</sup>



**Figura 6.** Diagrama anatômico do grão de cevada.<sup>22</sup>

Entre o embrião, o endosperma e a casca existe a camada de *aleurona* a qual é responsável pela liberação de enzimas hidrolíticas durante a germinação do grão de cevada. Essas enzimas são responsáveis pela degradação de lipídeos, proteínas de reserva e amido para que o embrião possa germinar adequadamente.<sup>32</sup> Para que a camada de *aleurona* seja estimulada, é necessário a presença de fito hormônios conhecidos como giberilinas. O ácido giberélico o qual é produzido pelo embrião e atua na camada de *aleurona*.<sup>33</sup>

O ácido giberélico exógeno pode ser utilizado como aditivo para estimular a germinação da cevada a qual é adicionada a água de maceração do processo de malteação.

**Tabela 1.** Composição da cevada cervejeira seca.<sup>7</sup>

<b>Composto</b>	<b>%</b>
Carboidratos totais	70 - 80
Proteínas	10,5 - 11,5
Matéria Inorgânica	2,0-4,0
Lipídeos	1,5 -2
Outras Substâncias	1,0-2,0

### 3.5. Processo de produção do malte

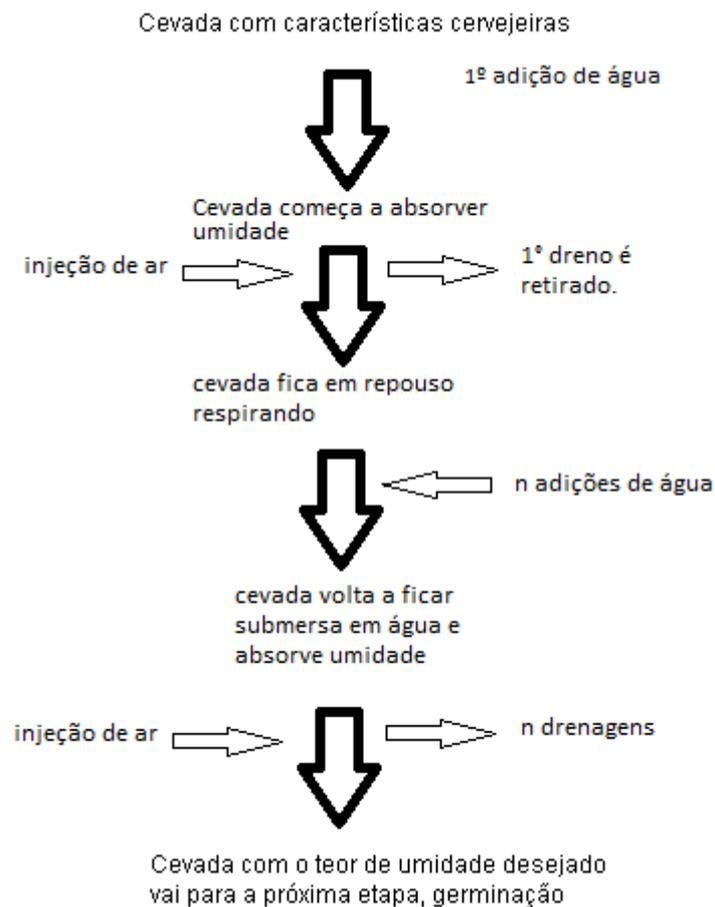
O processo convencional de malteação pode ser dividido em três etapas consecutivas: maceração, germinação e secagem. As etapas estão descritas em subitens abaixo.

#### 3.5.1. Maceração

A etapa de maceração consiste em fornecer umidade para o grão para que haja condição de germinar. Sendo assim, durante essa etapa o grão deve absorver umidade suficiente para estimular a germinação do embrião. A qualidade do malte final depende diretamente da performance da germinação, sendo assim fundamental uma maceração adequada e eficiente.<sup>34</sup>

A maceração consiste em submergir os grãos em água para aumentar seu teor de umidade, além de fornecer O<sub>2</sub> a fim de estimular o desenvolvimento do embrião.<sup>35</sup> Sendo assim, ciclos intercalados de momentos secos e submersos em água são realizados conforme **Figura 7**. Os momentos secos são necessários também para homogeneizar a umidade por todo o grão.

Conforme literatura, durante a maceração, a cevada deve ultrapassar os 40% de umidade para que ocorra uma germinação adequada a fim de obter o melhor desenvolvimento/atividade enzimático possível.<sup>7,13,34</sup> O teor de umidade acima do valor citado, garante a liberação de ácido giberélico e giberilinas por parte do embrião o qual desencadeará a liberação e produção das enzimas no corpo farinhoso da cevada a fim de modificá-lo para deixá-lo friável.<sup>35</sup>

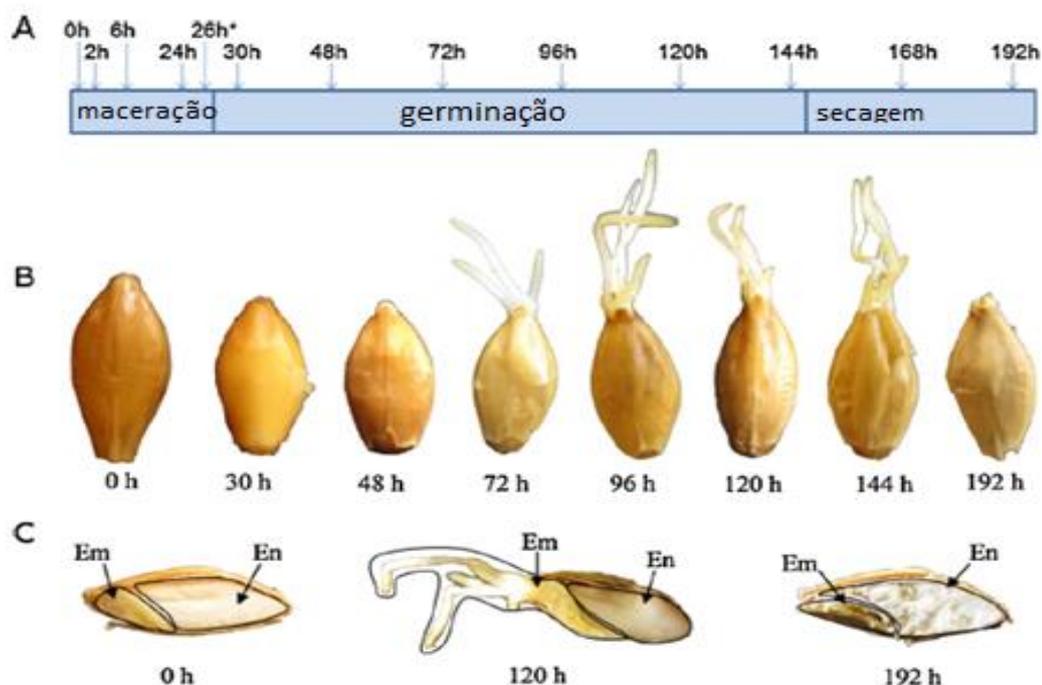


**Figura 7.** Diagrama explicativo das etapas de maceração.

A atuação de  $\beta$  glucanases, hemicelulases e proteases em conjunto com as amilases liberam e alteram a constituição do amido e seu aspecto torna-se farinhoso.<sup>7</sup> A friabilidade dos grãos, ou seja, a modificação de sua constituição é avaliada com o corte das sementes e é esperado, no mínimo, 70% de friabilidade dos grãos no malte.<sup>13</sup> A **Figura 8** mostra o aspecto da cevada/malte ao longo das etapas da produção de malte e o desenvolvimento do endosperma até ao final da secagem onde esse se encontra o endosperma com aspecto farinhoso.

Com o aumento do teor de umidade, as cascas da cevada se tornam menos rígidas e o endosperma, região rica em amido no grão, se tornam mais susceptível ao ataque enzimático.<sup>7</sup> Esses dois processos são importantes para a indústria cervejeira, uma vez que cascas menos rígidas e mais desprendidas do endosperma proporcionam maior facilidade no manuseio do processo cervejeiro. Assim, o malte de cevada será mais facilmente moído, o corpo farinhoso se torna mais friável e a

produção de enzimas é otimizado, o que proporcionará um aumento no rendimento do malte e, conseqüentemente, da produção de cerveja, pois as enzimas estarão mais disponíveis assim como o amido.



**Figura 8.** Grão de cevada germinada e suas impressões óticas durante a malteação. Legenda: Em: embrião; En: endosperma.<sup>37</sup>

Existem várias formas de realizar a etapa de maceração. A cevada, de acordo com sua composição de proteínas e casca, absorve água com relativa facilidade, porém para homogeneidade do teor de água em seu interior, é fundamental intercalar intervalos de excesso de água com repousos com injeção de ar, conforme mostrado na Figura 8. De acordo com a região de plantio e cultivares utilizados, a cevada pode apresentar composição variada a qual deve ser analisada antes de ser submetida a um processo de maceração. É adotado como rotina nas indústrias malteiras a realização de micromalteações de cada safra a fim de determinar os parâmetros os quais deverão ser conduzidos na produção em larga escala.<sup>37</sup>

Alguns cuidados devem ser observados na maceração da cevada. Primeiro, a água pode estimular o crescimento de microorganismos. Dessa forma, pode-se usar como primeira água de maceração caso a cevada seja encontrada com contaminação

fúngica ou coloração escurecida (a coloração esperada é a palha), uma solução de KOH diluída a fim de promover a lixiviação de microorganismos e de substâncias químicas que podem prejudicar o processo de malteação e conferir aromas e sabores indesejáveis para o produto final, a cerveja.<sup>37</sup>

O tempo de processo da maceração é uma variável do processo. Pode-se citar o processo de Schmitt onde a maceração dura 32 horas intercaladas de períodos imersos e períodos secos. Porém, alguns autores apresentam macerações mais rápidas como Barton em 18 horas e Evans com 24 horas de duração.<sup>22,37-38</sup>

Durante a maceração, a fase inicial de germinação pode começar e o embrião irá produzir CO<sub>2</sub>, que por sua vez irá se dissolver na água utilizada para macerar os grãos. Portanto, para impedir que o processo seguinte, a germinação seja prejudicada, deve-se realizar trocas nas águas de lavagem e fornecer ar para expurgar o gás.<sup>35</sup>

### **3.5.2. Germinação**

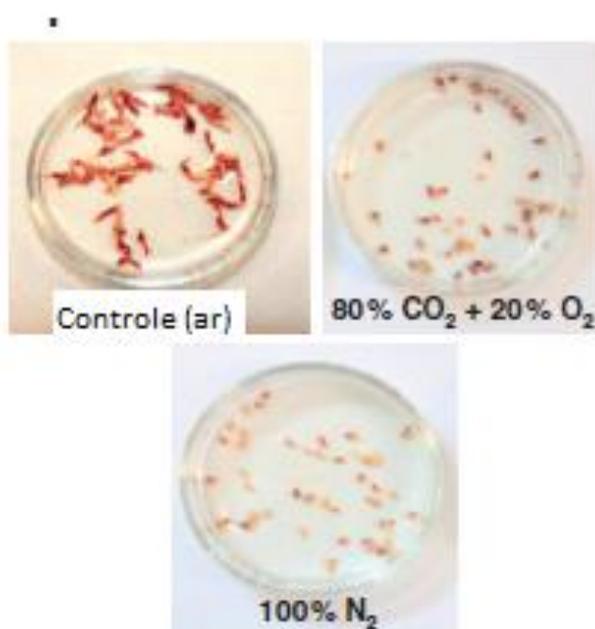
Durante essa etapa, ocorre o desenvolvimento/atividade enzimática do grão. Pode-se entender esse processo como sendo fundamental para o crescimento da planta. É indesejável que ocorra o desenvolvimento vegetal, uma vez que está associado à produção de fenóis, o qual traz sabores e aromas ditos como defeitos (*off-flavours*) ao produto final, a cerveja. Promove o consumo do endosperma (amido e aminoácidos) e impacta diretamente no rendimento do malte e, conseqüentemente, no processo produtivo cervejeiro.<sup>7</sup>

A temperatura da germinação é um fator fundamental a ser monitorado. Temperaturas mais baixas (16 - 20 °C) diminuem a velocidade da expressão enzimática, que diminuem a degradação do endosperma.<sup>39</sup> Sendo assim, períodos mais longos em baixas temperaturas aumentam a eficiência enzimática do malte sem grande desenvolvimento vegetal, o que proporciona rendimentos satisfatórios do malte produzido. Ao utilizar temperaturas altas de germinação, o amido será consumido durante a etapa, o que não é desejado uma vez que na produção de cerveja ele deverá ser degradado nas caldeiras. Além disso, com o consumo de amido

nessa fase, o embrião se desenvolverá e será constatado a presença de substâncias amargas indesejadas para a cerveja.

A troca de ar é um outro parâmetro importante, pois durante o processo é necessário retirar o  $\text{CO}_2$  e adicionar  $\text{O}_2$  a fim de promover a maior taxa de respiração.<sup>40</sup> A **Figura 9** mostra cevadas germinadas com diferentes gases. Pode-se observar que a falta de  $\text{O}_2$  e excesso de  $\text{CO}_2$  inibe a germinação, o que não é desejado para o processo de malteação.

O processo de germinação é um processo biológico o qual envolve a liberação de ácido giberélico e produção de giberelinas os quais desencadeiam a produção de enzimas hidrossolúveis, nas primeiras 48 horas de germinação. A enzima mais expressiva neste período é a  $\beta$  glucanase, a qual degrada os glucanos, constituinte das paredes dos grânulos de amido. Após a atividade dessa enzima o amido fica mais acessível ao ataque enzimático.<sup>7</sup>



**Figura 9.** Cevada germinada com diferentes fornecimentos de substâncias gasosas.<sup>41</sup>

A enzima  $\alpha$ -amilase e as proteases têm um aumento de atividade por volta de 48 a 96 horas de germinação. As enzimas  $\beta$ -amilases sofrem um decréscimo de sua atividade nos primeiros dias de germinação conforme relatado na literatura<sup>7</sup>. Essa

enzima em questão já se encontra presente nos grãos e o aumento da acessibilidade do amido faz com que as enzimas  $\beta$ -amilases hidrolisam as reservas para gerar energia para o desenvolvimento do embrião. Após 72 horas de germinação, sua concentração volta a aumentar a fim de fornecer açúcares para o vegetal se desenvolver.<sup>13</sup> Porém, a atividade enzimática elevada nesta etapa proporciona o crescimento vegetal consumindo o corpo farinhoso, o qual prejudicará diretamente o rendimento de caldeira na indústria cervejeira.

Essa atividade metabólica mobiliza as proteínas e nutrientes celulares, propiciando a formação de açúcares redutores, aminoácidos, peptídeos, restos de parede celular e outros componentes em pequenas quantidades. Essas mudanças são importantes para o processo industrial, pois de 90 a 92 % da composição do extrato primitivo são compostos decorrentes da degradação do amido, enquanto, aproximadamente 4%, são derivados de degradações proteicas.<sup>22</sup> A regulação da ação enzimática das proteases e peptidases é mais complexa, uma vez que se conhecem 6 amilases e mais de 40 peptidases envolvidas na germinação da cevada.

42

As enzimas amilases são o ponto principal desse trabalho, uma vez que a produção dessas enzimas é imprescindível para a posterior produção de cerveja. A enzima  $\alpha$  amilase realiza reações de hidrólise no meio da cadeia de amido, liberando dessa forma dextrinas, conforme já falado anteriormente. A enzima  $\beta$  amilase, por sua vez, é capaz de hidrolisar as pontas das cadeias de amido liberando maltose após sua ação.<sup>42</sup>

O período de germinação depende da cevada utilizada bem como também do malte final que se deseja obter. Um fator crucial é a liberação de açúcares redutores e aminoácidos para a secagem dos maltes especiais. Também é fundamental acompanhar essa liberação para a produção de malte do tipo *Pilsen*, uma vez que se liberado em excesso pode aumentar a cor do malte final.<sup>22</sup>

O tamanho ideal para a radícula é de grande importância e varia de acordo com a variedade de malte.<sup>7</sup> Os maltes tipo *Pilsen* apresentam eficiência enzimática suficiente para sacarificar o amido, apesar disso não necessitam de longos períodos de germinação, conseqüentemente o crescimento da radícula precisa ser

acompanhado ao longo do processo. O ideal é que o consumo de amido seja o menor possível para que haja mais para a produção de cerveja. Sendo assim, quanto menor o crescimento de radícula, maior será a quantidade de amido para a produção de cerveja.

Isso se deve ao fato de que durante o processo de produção de cerveja o amido e as proteínas do malte serão degradados pelas enzimas na primeiras etapas da produção, na sala de brassagem. O essencial é que o malte base, ou malte tipo *Pilsen*, tenha eficiência enzimática suficiente para se sacarificar, ou seja, não apresentar amido no teste de iodo.<sup>13</sup>

Segundo Kunze, para os maltes especiais que se desejam colorações mais escuras, devido à secagem mais intensa, devem ser submetidos a uma germinação mais longa. Dessa forma, na conseqüente produção de cerveja não será necessário um trabalho tão intenso para a degradação enzimática. Como conseqüência, terá um malte com menos amido e dessa forma menor rendimento de produção cervejeira.<sup>7</sup>

Além do quesito facilidade de sacarificação durante a produção de cerveja, a obtenção de aroma e coloração dos maltes especiais depende de uma série de reações. Elas acontecem durante a secagem e tem como reagentes principais os açúcares redutores e os aminoácidos. Sendo assim, a degradação de proteínas (aminoácidos) e amido (açúcares redutores) afeta as características organolépticas do malte em decorrência das diferenças no processo de secagem.

### **3.5.3. Secagem**

Na terceira etapa de produção de malte, a secagem, o teor de umidade do malte verde deve ser reduzido a fim de reduzir as atividades enzimáticas que estão ocorrendo ao longo do grão. Essa fase também é responsável pelo sabor e aroma final do malte, os quais são decorrentes de processos químicos, as reações de caramelização, *reações de Maillard* dentre outras.<sup>13</sup>

Durante a secagem do malte, ocorre a formação de nitrosaminas e de DMS (dimetil Sulfeto). Para eliminar o DMS, o qual proporciona aroma de vegetais cozidos

na cerveja se não for retirado durante o processo, é empregado fluxo de ar para que grande parte do DMS seja eliminado fisicamente.<sup>7</sup> Quanto a nitrosaminas, pode-se utilizar um gás com menor teor de N<sub>2</sub>, o qual apresentará menor conteúdo de NO<sub>x</sub>. Dymek e colaboradores, relataram o emprego de pulsos elétricos para promover a secagem do malte, o que reduz a taxa das reações endotérmicas, tais como a formação de nitrosaminas.<sup>42</sup> Os parâmetros que devem ser acompanhados durante a secagem do malte são: temperatura de secagem e fluxo de ar empregado, os quais são de fundamental importância para a eficiência enzimática no processo cervejeiro e contribuem fortemente nas características organolépticas da cerveja.

Zhao e colaboradores relataram que apesar de algumas metodologias serem empregadas para diminuir a concentração de algumas moléculas, é necessário um equilíbrio de aromas do malte. O DMS é um composto sulfurado quem tem como precursores o S-metilmethionina (SMM) e o dimetilsulfóxido (DMSO). Sua presença é importante para a qualidade organoléptica do malte. O DMS é o principal componente responsável pelo sabor nas cervejas estilo lager, tendo sua concentração ideal na faixa de 30 µg/l a 100 µg/l. Contudo, valores altos de DMS conduzem a um sabor e aroma de vegetais cozidos para o malte, sendo assim considerado um *off-flavour*.<sup>43</sup>

A coloração do malte durante a secagem é determinada pelas reações de *Maillard* e reações de caramelização. Dessa forma, um período mais longo de germinação produz mais aminoácidos e açúcares redutores para serem reagentes das reações que ocorrerem durante a secagem. A unidade utilizada para medir a coloração do malte poder ser EBC (*European Beer Color*) ou ASBC (*American Society of Brewing Chemists*).

Esses produtos da reação modificam a cor, alteram o sabor e o aroma do malte, sendo possível obter cervejas das mais diversas cores e texturas a partir de controles reacionais associados a essa reação. Para favorecer as *reações de Maillard* e de caramelização é usual a utilização de temperaturas de secagem superiores a 100 °C, conforme Kunze.<sup>7</sup>

As *reações de Maillard*, onde açúcares reagem com aminoácidos obtendo-se assim melanoidinas está descrita na **Figura 10**. A reação é dividida em três etapas. Na primeira etapa, ocorre a condensação do carboidrato com o aminoácido, que irá

sofrer um rearranjo estrutural chamado de *rearranjo de Amadori*. Na segunda etapa, ocorre a desidratação do carboidrato e a liberação de um fragmento do aminoácido. Na terceira etapa, ocorre a condensação aldólica e a formação do heterociclos nitrogenados.<sup>44</sup>

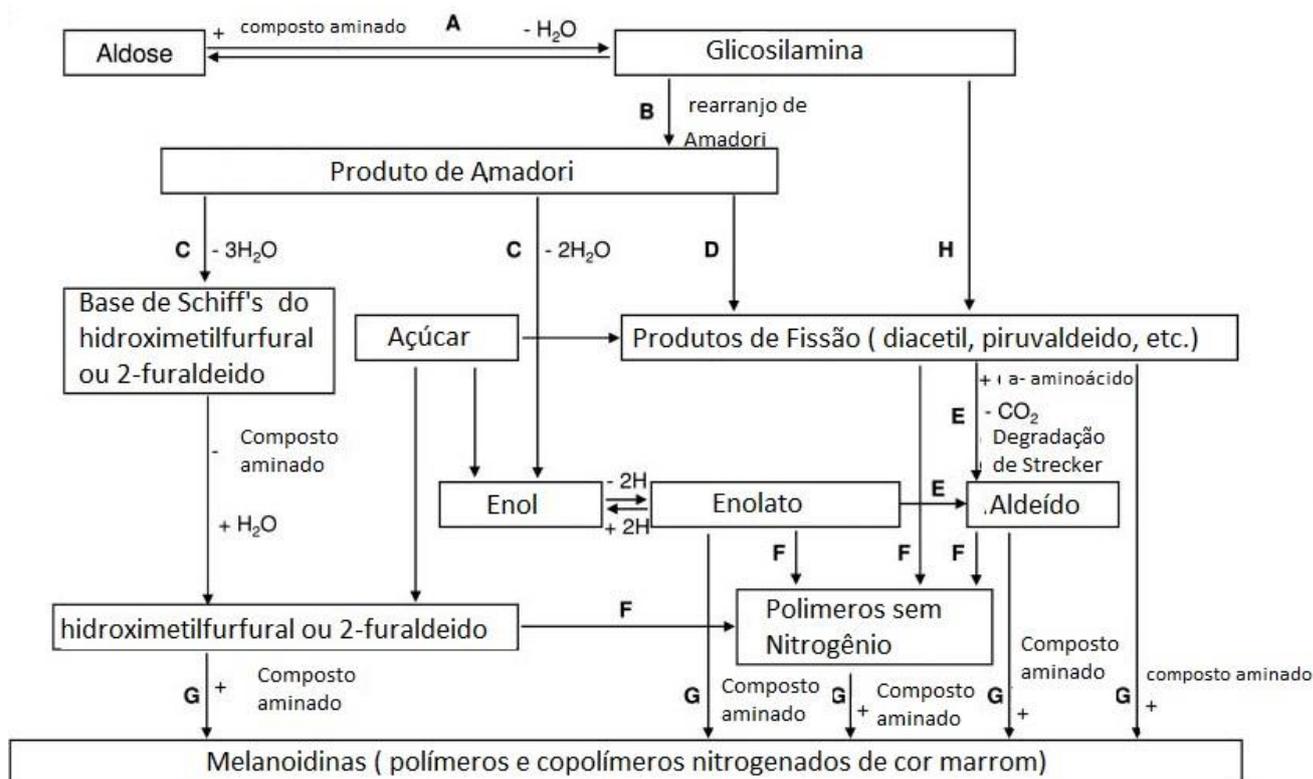


Figura 10. Conjunto de *reações de Maillard*.<sup>46</sup>

Um bom controle para garantir a homogeneidade do malte, é a temperatura de secagem, a qual é decisiva para a classificação do malte.<sup>41</sup>

Durante a secagem enzimas termo sensíveis tendem a perder eficiência, como a enzima  $\beta$  amilase que diminui até 40% de sua atividade durante a secagem. Em contrapartida, enzimas como a  $\alpha$  amilase aumentam sua atividade em até 15% durante essa etapa.<sup>7</sup>

O malte base, ou tipo *Pilsen*, é aquele que possui eficiência enzimática suficiente para ser capaz de realizar a sacarificação sem a utilização de enzimas externas. Para que o malte tenha essa eficiência enzimática ao final da secagem, é necessário que a umidade seja retirada no início de forma branda com temperaturas próximas a  $40^\circ C$ , podendo depois aumentar para  $70^\circ C$  a fim de retirar DMS do malte.

### **3.6. Processo de produção da cerveja**

O processo convencional de produção de cerveja pode ser dividido em três etapas consecutivas: mosturação, fervura e fermentação. As etapas estão descritas em subitens abaixo.

#### **3.6.1. Mosturação**

A primeira parte da produção de cerveja envolve a extração dos componentes solúveis do malte ou de adjuntos cervejeiros para a produção de um mosto. Como a bebida é feita de cereais que possuem em sua constituição principalmente fontes de carboidratos, essa etapa é crucial no processo de produção de cerveja.<sup>7</sup>

Para aumentar a eficiência da extração dos componentes desejáveis do malte, primeiramente o mesmo deve ser moído. Existem alguns tipos de moinhos utilizados na produção de cerveja, o mais utilizado é o moinho de rolos. Nesse equipamento, o cereal é "esmagado" de forma a soltar as cascas quase intactas e o corpo farinhoso.<sup>7</sup>

Após a moagem do malte, é adicionado água quente sob agitação para começar as atividades enzimáticas. A temperatura ideal para se adicionar o malte na água depende da receita cervejeira. Kunze cita o intervalo entre 45 °C e 50 °C como ideal para começar a atividade enzimática das proteases.<sup>7</sup> Palmer ainda mostra uma temperatura menor, 40 °C para adição do malte na água.<sup>10</sup>

A quantidade de malte em relação a quantidade de água também é um fator que depende da receita. Kunze cita de 400 a 500 L de água para cada 100 kg de malte para cervejas mais claras e 300 a 350 litros de água para cada 100 kg de malte para cervejas mais escuras. Além disso, estudos relataram a diferença de atividade enzimática com a diferença de concentração de substrato. Sendo assim, quanto mais concentrado, maior atividade das enzimas  $\beta$ -amilases, conseqüentemente maior teor alcoólico.<sup>7</sup>

Para a produção de uma cerveja básica, *mainstream*, quatro intervalos a específicas temperaturas são fundamentais e relatados:

40 - 50 °C, ocorre o descanso proteico, responsável pela degradação das proteínas insolúveis em proteínas de médio peso molecular e aminoácidos. Esse período é importante para o aumento da concentração de aminoácidos que é essencial para a fermentação. Porém, deve ser controlado uma vez que a espuma da cerveja é um fenômeno causado pela formação de uma camada de proteínas de alto peso molecular que impede a saída de gás. O tempo para o descanso proteico depende da receita, e dos maltes e adjuntos utilizados na receita. O trigo, por exemplo, possui teor de proteína maior que a cevada permitindo assim uma maior duração do repouso sem prejudicar a espuma no produto final.<sup>42</sup>

60 – 65 °C, ocorre a maior atividade das enzimas  $\beta$  amilase. Esse período é diretamente responsável pelo aumento da concentração de açúcares redutores que irão dar origem ao etanol na bebida. Períodos muito longos nesse intervalo irão causar a sensação de secura na boca devido à alta concentração de álcool e baixa concentração de dextrinas (responsáveis pelo corpo da cerveja).<sup>13</sup>

70 – 75 °C, ocorre a maior atividade das enzimas  $\alpha$  amilase. Nesse período, ocorre o aumento da concentração de dextrinas que fornecem dulçor (corpo) a cerveja, dessa forma contribui de maneira significativa para o paladar da bebida.<sup>7</sup>

78 °C, onde ocorre a desnaturação das enzimas, o que permite uma maior padronização da receita. Assim, são finalizadas as atividades enzimáticas que atuaram por tempo determinado a fim de garantir o que foi desejado desde o início. Temperaturas acima de 78 °C, na presença das cascas do malte, são evitadas pois o malte possui compostos fenólicos que se solubilizam no mosto acima desses valores causando amargor e adstringência excessivo.<sup>45</sup>

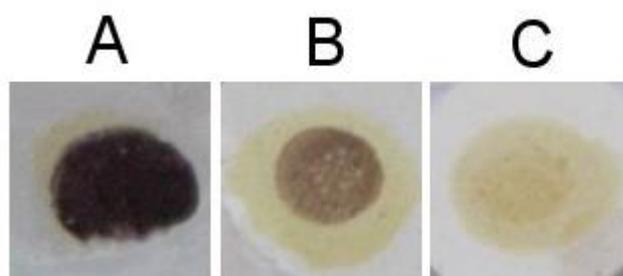
**Tabela 2.** Atividade enzimática das principais enzimas atuantes na mosturação durante o processo de produção de cerveja.<sup>7</sup>

Enzima	Atuação	pH ótimo	T ótima
--------	---------	----------	---------

$\alpha$ amilase	Degrada amido em dextrinas	5,6 -5,8	70 - 75
$\beta$ amilase	Degrada amido em maltose	5,4 - 5,6	60 - 65
Dextrinase	degrada dextrinas a maltose e maltotriose	5,1	55 - 60
Endopeptidase	degrada proteínas em em produtos de alto e medio PM	5	50 - 60
Exopeptidase	degrada proteínas em em produtos de baixo PM ou aminoácidos	5,2 - 8,2	40 - 50
Hemicelulase	degrada hemicelulose em gomas	4,5 - 4,7	40 - 45

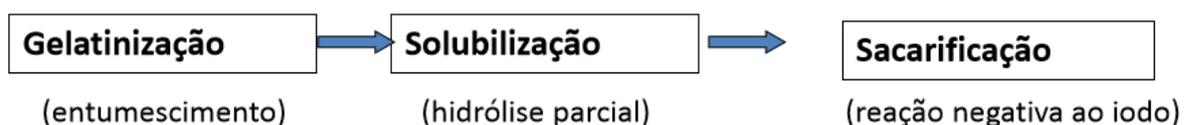
Com esses repousos a essas temperaturas é possível obter um mosto adequado em termos de aminoácidos e proteínas solúveis para a nutrição da levadura, bem como carboidratos de menor peso molecular para garantir a fermentação. A Tabela 2 traz a faixa de temperatura de máxima eficiência de enzimas presentes no malte de cevada. Outro fator relevante para a atuação enzimática é o pH.<sup>47</sup> A adição de malte na água resulta em um pH ácido, entre 5 e 6, dependendo da composição da água inicial. Porém, algumas cervejarias utilizam  $\text{CaSO}_2$  ou  $\text{CaCl}_2$  como acidulante para melhorar a atividade enzimática.

Para garantir que o mosto apresentará uma conversão de amido em frações menores, é realizado o teste de iodo, onde uma parte do mosto é retirada e adicionado uma solução de iodo. O amido complexa com o iodo formando um complexo de coloração azul forte, conforme **Figura 11**. Um indicativo de uma mosturação satisfatória é a adequada degradação do amido, o qual é representado pelo teste negativo ao iodo.<sup>48</sup>



**Figura 11.** Reação de  $I_2$  com amido presente no mosto cervejeiro. Legenda : A - mosto com alto teor de amido, teste positivo; B - mosto apresenta pouca quantidade de amido; C - mosto não apresenta quantidade significativa de amido, teste negativo.<sup>50</sup>

A densidade do mosto varia durante o processo de mosturação em função da hidratação do amido. Segundo Kunze, o amido passa por três etapas durante a produção de cerveja: gelatinização, solubilização e sacarificação, conforme **Figura 12**. A primeira é o momento onde os grânulos de amido começam a se diluir em água quente, aumentando sua superfície de contato com as enzimas hidrolíticas. Com a atuação da enzima  $\alpha$  amilase o amido se solubiliza, tendo uma queda na densidade do amido em relação ao gelatinizado. Ao final na sacarificação a solução não reage com o iodo indicando que o amido foi convertido.<sup>7</sup>

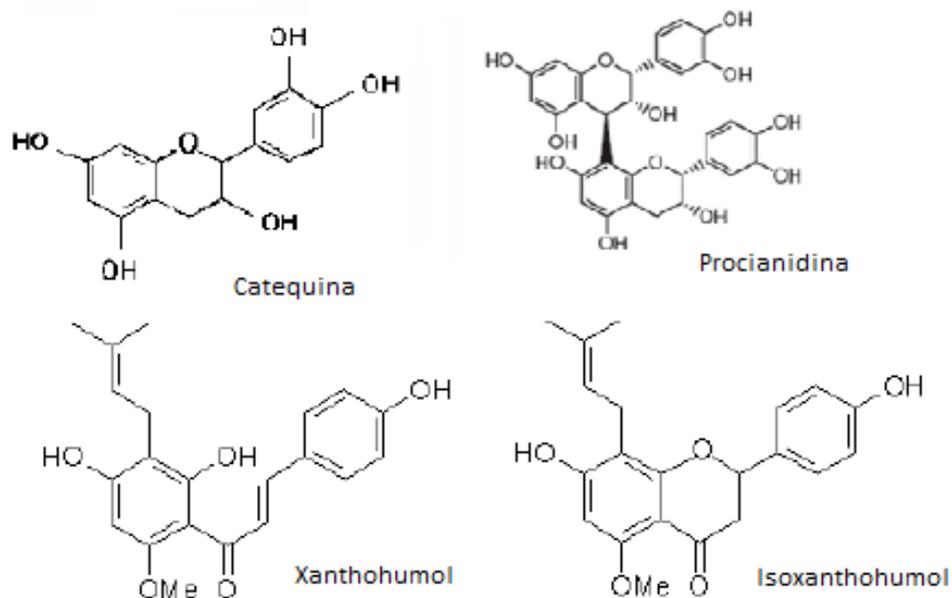


**Figura 12.** Processo de sacarificação do amido da cevada durante a produção de cerveja.<sup>7</sup>

Depois de realizado os repousos de mosturação, o mosto deve ser separado das partes insolúveis por meio da filtração. Segundo Kunze, a metodologia de filtração mais utilizada pela indústria cervejeira é de tina de clarificação de fundo falso, onde uma placa de aço inox com ranhuras é colocado como um fundo falso da tina usado para a filtração. As cascas e materiais insolúveis do malte ficarão retidos na parte superior da tina e a parte solúvel, passa pelas ranhuras e pelas cascas. Nessa etapa, as cascas funcionarão como elemento filtrante.<sup>7</sup>

Para aumentar a eficiência desse tipo de filtração é recomendado o processo de recirculação, onde o mosto é retirado pelo fundo do reator e depois adicionado novamente pela parte de cima da tina. Dessa forma, o líquido é filtrado várias vezes se obtendo assim um mosto mais translúcido.<sup>7</sup>

Após essa etapa, lava-se os grãos filtrados com água quente com o intuito de aumentar a eficiência da extração de componentes solúveis do malte e adjuntos. A temperatura da água não pode ultrapassar os 78 °C para evitar a solubilização de compostos fenólicos. Alguns compostos fenólicos presentes na cevada/malte são apresentados na **Figura 13**.<sup>45</sup>



**Figura 13.** Estrutura química de compostos fenólicos presentes nas cascas do malte.<sup>47</sup>

### 3.6.2. Fervura

Com o mosto reduzido de materiais sólidos e insolúveis, esse é colocado para ferver. A finalidade desse procedimento é a desinfecção do mosto, importante para garantir que outros microorganismos oriundos do malte não entrem em competição

com a levedura no processo fermentativo.<sup>7,46</sup> Nesse momento, ocorre a evaporação da água em excesso utilizada no processo de lavagem do bagaço.

Durante a fervura o lúpulo deve ser adicionado ao mosto. O lúpulo é uma flor oriunda de uma planta trepadeira, *Humulus lupulus*, adicionada ao mosto para proporcionar amargor, aroma, sabor e também por atuar como um bactericida. A **Figura 14** traz a imagem da flor fêmea de lúpulo.<sup>51</sup>

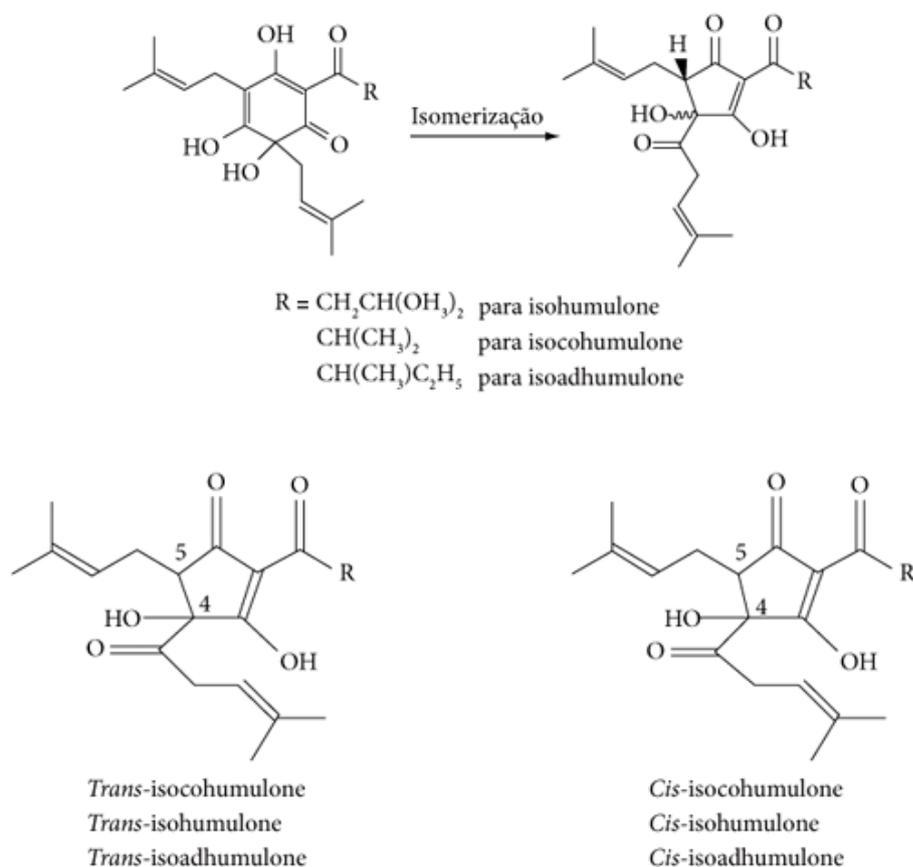


**Figura 14.** Corte longitudinal das flores fêmeas de lúpulo, observando-se no interior as glândulas que contêm os  $\alpha$ -ácidos.<sup>51</sup>

O tempo necessário para a fervura deve ser estipulado de acordo com a receita cervejeira, de acordo com o amargor desejado. As substâncias responsáveis pelo amargor da cerveja são os iso- $\alpha$ -ácidos. O padrão de medida para o amargor de cerveja é chamado de IBU (*international bitterness unit* – unidade de amargor internacional) é dado como concentração de iso- $\alpha$ -ácidos (mg/L).<sup>47</sup>

Entretanto, o lúpulo não possui os iso- $\alpha$ -ácidos em sua forma ativa. Ele apenas apresenta os precursores, os  $\alpha$ -ácidos, em sua constituição. Para que o amargor característico das cervejas seja obtido, é necessário ferver o lúpulo em pH ácidos afim

de promover a isomerização dos  $\alpha$ -ácidos como mostra a reação na **Figura 15**. Somente assim, a cerveja apresentará amargor característico oriundo de lúpulo.<sup>51</sup>



**Figura 15.** Isomerização de  $\alpha$ -ácidos em iso-  $\alpha$ -ácidos e seus derivados.<sup>51</sup>

Palmer cita que a adição de lúpulo deve ser feita de forma gradual. Como o lúpulo possui muitas substâncias voláteis, caso ele seja exposto à fervura durante muito tempo, essas espécies voláteis que compõem o aroma do lúpulo serão expurgadas do mosto. As substâncias causadoras do amargor também sofrem impacto por tempo de fervura excessivo conferindo apenas amargor ao mosto. Portanto, para que o lúpulo forneça aroma, sabor e amargor é necessário o adicionar gradualmente permitindo que ele seja exposto a períodos adequados de fervura em cada adição.<sup>46</sup>

Compostos fenólicos do lúpulo complexam com proteínas de alto peso molecular causando a formação do *trub*. O *trub* é uma massa que é retirada da cerveja por decantação. Sua remoção garante um amargor aceitável a cerveja, melhora na qualidade visual da cerveja bem como evita interferências prejudiciais a fermentação.

Com o término da fervura, o mosto deve ser resfriado o mais rápido possível por trocadores de calor a fim de não expô-lo a contaminantes. Logo em seguida, ocorre a aeração do mesmo seguido da adição de levedura cervejeira.<sup>52</sup>

### 3.6.3. Fermentação

A fermentação é o processo no qual a levedura cervejeira irá metabolizar nutrientes como maltose e aminoácidos para produzir o etanol, CO<sub>2</sub> e outras substâncias flavorizantes presentes na cerveja.<sup>52</sup>

O tipo de cerveja a ser produzido vai depender da matéria prima utilizada e da linhagem da levedura empregada no processo fermentativo. As cervejas podem ser classificadas em duas grandes categorias principais: *ales* e *lagers*. Ambas as cervejas passam pela etapa de fermentação, porém apresentam sabores e aromas distintos para cada tipo de cerveja, resultado do “trabalho” das leveduras empregadas. É nesta fase que se empregam cepas de leveduras distintas, uma vez que a temperatura e a linhagem são empregadas com a finalidade de diferenciação da cerveja. As cervejas do tipo *ale* são em temperaturas mais quentes, a cerca de 13-25° C , por *Saccharomyces cerevisiae*, durante curtos períodos de tempo ( 3 a 5 dias de fermentação ). As cervejas do tipo *lagers*, por outro lado, são fermentados em temperaturas mais baixas, cerca de 7-15° C, pela *Saccharomyces uvarum*, anteriormente conhecido como *Saccharomyces carlsbergensis*, por períodos mais longos de tempo ( 6-10 dias de fermentação).<sup>53</sup>

Como os *Saccharomyces* sp. são anaeróbios facultativos, nas primeiras 12 horas da etapa de fermentação, a levedura realiza a respiração celular e apresenta um aumentando em sua densidade de células. Por isso, é realizada a aeração do mosto antes do início da fermentação. As horas seguintes dessa etapa serão observados o processo fermentativo como rota energética. O tempo de fermentação varia entre 3 a 10 dias, dependendo da cepa utilizada.<sup>54</sup>

Durante a fermentação, uma variedade de subprodutos serão gerados. Kunze cita como exemplo os álcoois superiores, as dicetonas, os ésteres, os aldeídos e os

compostos sulfurados como os principais. A Figura 16 mostra um gráfico da formação e redução da concentração do acetaldeído.<sup>7</sup>

A fermentação libera uma grande quantidade de calor e de CO<sub>2</sub> e por isso é necessário a regulação da temperatura do mosto durante a fermentação.<sup>6</sup> A padronização do produto que é fermentado sempre à mesma temperatura tende a manter suas características originais e reprodutíveis, se não houver interferentes.

A higiene é um requisito para impedir a competição microbiana e causar uma fermentação indesejada. Desinfetar os equipamentos, tanto fermentadores, mangueiras, reatores e juntas com solução alcalina de NaOH, ou ácido peracético permite um ambiente mais adequado para a levedura.<sup>6-7</sup>

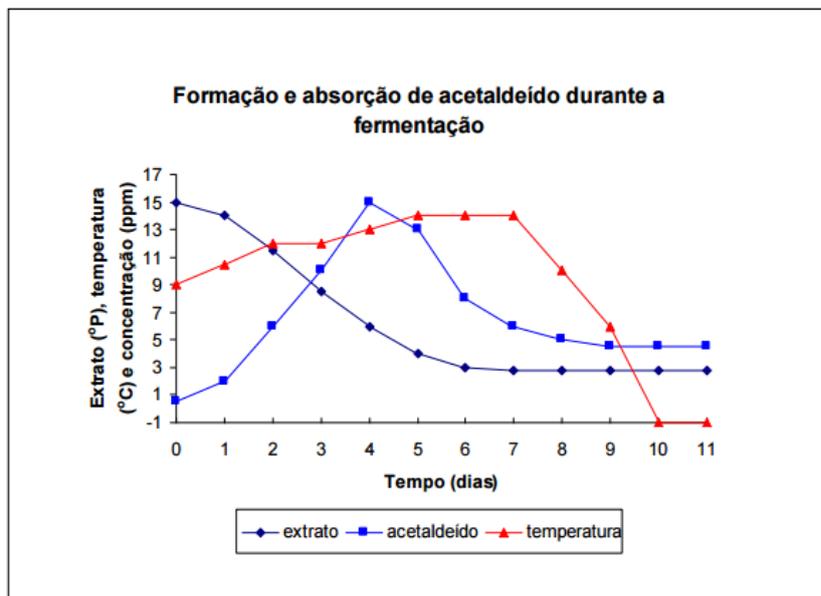


Figura 16. Formação e absorção do acetaldeído durante a fermentação.<sup>55</sup>

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

Uma das cevadas utilizada foi do cultivar Scarlet e foi plantada em agosto de 2014 em uma propriedade rural na região do São Gabriel em Goiás e colhida em novembro de 2014. *Vale* ressaltar que durante a colheita houve um índice de precipitação maior que o esperado e o cultivo não foi irrigado artificialmente. A cevada será identificada como CEV01.

Um projeto em parceria com a ABInBev (Centro de Pesquisa em Cevada – Passo Fundo –RS), com a EMBRAPA - Trigo e Cevada, a empresa Agrícola Sempre Viva e a Universidade de Brasília (LabCCERVA) foi realizado na região Centro-Oeste para cultivar diferentes variedades de cevada que apresentam potencial para cultivo na região Centro-Oeste. 20 variedades de cevada foram cultivadas pela empresa Agrícola Sempre Viva, porém poucas apresentaram bom rendimento de colheita na área rural do DF. As cevadas foram plantadas em maio de 2015 e colhidas em setembro de 2015 em um regime de plantio com irrigação artificial. Atualmente, as variedades cultivadas se encontram em sigilo por estarem em processo de proteção juntamente ao INPI. O cultivar selecionado foi o que apresentou melhor produtividade em campo. A cevada foi avaliada antes do recebimento pelo laboratório da UnB em termos de poder germinativo, classificação dos grãos, umidade e teor de proteínas.

### 4.1 Análises da cevada

#### 4.1.1. Poder germinativo, energia germinativa e sensibilidade a água

- Poder germinativo:

Foram contados 100 grãos de cevada e colocados em vidro de relógio, estes foram umedecidos em 4 mL solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. 0,75% A quantidade de grãos germinados no período de 72 h foi aferida. Experimento realizado em triplicata.

- Energia germinativa

Foram contados 100 grãos de cevada, colocados em vidro de relógio e foi adicionado 4 mL de água destilada. A quantidade de grãos germinados no período de 72 h foi aferida. Experimento realizado em triplicata.

- Sensibilidade a água.

Foram contados 100 grãos de cevada, colocados em vidro de relógio e foi adicionado 8 mL de água destilada. A quantidade de grãos germinados no período de 72 h foi aferida. Experimento realizado em triplicata.

#### 4.1.2. Umidade

Um cadinho foi seco em estufa Tecnal TE 394/1 a 105 °C até apresentar massa constante. No cadinho foi adicionado cerca de 1 g de cevada que foi colocado na mesma estufa com as mesmas condições de secagem do cadinho. Adaptado conforme literatura.<sup>56</sup>

#### 4.1.3. Produção do malte

A cevada cultivada no Centro-Oeste sob sigilo de proteção foi macerada de duas formas distintas: o malte 1 (M1) foi exposto durante 1h a imersão em água, sendo 300g de cevada para 1L de água. Após o período, a cevada passou por um período seco de 1h. Esse processo foi repetido mais duas vezes totalizando 5h de maceração. Conforme tabela 3.

**Tabela 3.** Períodos intercalados na maceração da cevada.

<b>Processo</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
1º período úmido	1 hora	1 hora
1º período seco	1 hora	30 minutos
2º período úmido	1 hora	1 hora
2º período seco	1 hora	30 minutos

3º período úmido	1 hora	1 hora
Total	5 horas	4 horas

O mesmo procedimento foi realizado para a mesma cevada, porém, mantendo apenas 30 min de período seco. Sendo assim chamado de malte 2, M2.

Amostras de umidade foram retiradas ao final de cada fase seca e cada fase úmida. Ao final da maceração, a cevada foi colocada em uma câmara a uma temperatura entre 11 e 12 °C a fim de conduzir a germinação, a qual ocorreu por 9 dias. A cada dia foi retirado uma amostra para análise de atividade enzimática. As amostras foram secas em uma estufa Tecnal TE 394/1 com circulação de ar a 45 °C durante 12 horas.

O malte final foi seco durante 24 horas a 45°C e depois durante 6 horas a 70 °C. Após essa etapa, o malte foi denominado “malte verde seco”. A umidade foi avaliada ao longo de todo o processo.

## **4.2. Análises do malte**

### **4.2.1. Atividade enzimática**

As atividades da  $\beta$  amilases e da  $\alpha$  amilase foram analisadas a partir de uma adaptação da metodologia descrita por Osman.<sup>56</sup>

- Preparo da solução

Para as análises de atividade enzimática foi preparada uma solução de DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico). O preparo foi realizado dissolvendo 300 g de  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$

em 500 mL de água destilada. Depois foi adicionado 10 g de DNS Vetec e 200 mL de solução NaOH (2M) Vetec. Ao final, o volume foi completado para 1 L.

- Preparação do extrato

O malte verde seco foi triturado, pesado 0,75g do malte e colocado em um tubo de ensaio. Nesse tubo, foi adicionado 4 mL de água destilada e colocado para agitação em vortex durante 5 segundos.

O tubo foi mantido em banho maria a 30°C por 30 minutos, sendo que de 5 em 5 minutos o tubo foi retirado para agitação no vortex durante 5 segundos. Ao final, os tubos foram centrifugados a 3500 rpm durante 10 minutos.

- Ensaio da enzima  $\beta$  amilase

O extrato para a enzima  $\beta$  amilase foi produzido retirando 400  $\mu$ L do tubo centrifugado e adicionando 100  $\mu$ L de solução de EDTA (0,1 M), totalizando uma solução de 20mM de EDTA.

Uma solução de amido solúvel Aldrich 0,5 % m/m foi preparada em solução tampão de citrato pH 5,5 0,016M. O ensaio foi realizado com seis tubos de ensaio denominados: amostra, solução de amido e branco. As 3 amostras foram preparadas adicionando 250  $\mu$ L de solução de amido e 50  $\mu$ L de extrato. Os 2 brancos com amostra foram preparados adicionando apenas 250  $\mu$ L de solução de amido. O branco foi preparado adicionando 250  $\mu$ L de solução de amido e 50  $\mu$ L de água destilada. Todos os tubos foram colocados a 60°C em um banho maria por 10 minutos.

Ao final dos 10 minutos, foi adicionado 2 mL de solução de NaOH (0,1M) começando primeiro pelos tubos de amostra. Depois que os tubos continham a solução, foi adicionado 50  $\mu$ L de extrato da enzima  $\beta$  amilase nos tubos de branco com amostra.

Com os tubos prontos foi adicionado 1 mL de DNS em cada tubo e colocado para ferver durante 5 minutos. As soluções resultantes foram analisadas em

espectrofotômetro de UV/Vis DU 650 Beckman a 540 nm. Os valores encontrados estão na unidade de  $\text{mmol de maltose} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$

- Ensaio das enzimas  $\alpha$  amilase

O extrato de  $\alpha$  amilase foi preparado com 480  $\mu\text{L}$  de extrato centrifugado e 20  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{CaCl}_2$  (0,5 M) totalizando 20mM de  $\text{CaCl}_2$ . O extrato foi colocado em banho maria a 70°C durante 7 min.

Da solução resultante foi preparado um ensaio da mesma forma como na enzima  $\beta$  amilase com amostra, branco com amostra e branco. Os volumes são os mesmos com o banho maria a 70°C para a as enzimas  $\alpha$  amilase.

Ao fim do ensaio, as reações são interrompidas com 2 mL de solução de NaOH (0,1M) e é adicionado 50  $\mu\text{L}$  de extrato aos tubos branco com a amostra.

Foi adicionado 1 mL de DNS e colocado para ferver durante 5 minutos. A solução resultando foi lida em espectrofotômetro de UV/Vis DU 650 Beckman 540nm.

- Análise de dados

Para descontar valores de absorbância em relação a concentrações de açúcares redutores obtidos durante a extração e/ou desativação das enzimas foi utilizado o modelo de  $S = A - BA$ . Sendo o saldo (S) o valor da diferença entre as absorbâncias da amostra (A) e do branco com amostra (BA).

Foi produzida uma curva analítica com maltose, preparando soluções de 0,6 a 2,7 mg/mL de maltose, a volumetria foi igual à dos ensaios. 300  $\mu\text{L}$  de solução de maltose, 2 mL de solução de NaOH 0,1 M e 1 mL de DNS fervidos por 5 minutos. Os valores foram obtidos em espectrofotômetro de UV/Vis DU 650 Beckman a 540 nm. A curva obtida se encontra em Anexos.

#### 4.2.2 Determinação de extrato, coloração e proteína solúvel

Foram pesados 50g de malte moído e peneirado e a quantidade foi adicionada em um béquer. 200 mL de água destilada a 46 °C foram adicionados. A solução foi mantida homogênea por meio de agitação magnética, durante 30 minutos.<sup>55</sup>

A solução foi aquecida em uma taxa de 1 °C/min em placa de aquecimento até alcançar os 70 °C. Em seguida foi adicionado 100 mL de água destilada a 70 °C. Foi realizado um repouso de 60 minutos.

A solução foi resfriada a temperatura ambiente e seu peso foi completado para 450 g com água destilada. Em seguida, a solução foi centrifugada a 3600 rpm e filtrada a pressão atmosférica.

A densidade da solução foi aferida por meio de picnômetro de 25 mL.

A solução foi analisada em um espectrofotômetro de UV/Vis, da marca DU 650 Beckman, em 430 nm, Como descrito por Smidley, para cálculo de coloração do mosto em EBC.<sup>57</sup>

Para análise de proteína foi utilizado a mesma solução obtida para o extrato. Dessa forma foi adicionado a 5 µL do mosto recolhido anteriormente, 250 µL de reagente Bradford da Sigma. Essa reação ficou em repouso por 10 minutos até que qualquer proteínas solúvel pudesse estabilizar a nova coloração do reagente Bradford . Ao final dos 10 minutos a solução foi lida em espectrofotômetro com a absorção da luz fixada em 595 nm.<sup>58</sup>

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 - Resultados da CEV 01

Os resultados das análises de teor de umidade, poder germinativo, energia germinativa e sensibilidade à água são dados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Valores de umidade, poder germinativo, energia germinativa e sensibilidade a água da cevada.

	<b>Resultados</b>
Teor de Umidade da Cevada	13,61%
Poder Germinativo	95%
Energia germinativa	93%
Sensibilidade a água	28%

Segundo Tunes, armazenar sementes com teor de umidade acima de 13 % resulta em danos provocados por mudanças no metabolismo celular, como o aumento da atividade enzimática e respiratória das sementes.<sup>59</sup> Outro problema relacionado ao alto teor de água dos grãos durante a armazenagem é devido ao desenvolvimento de fungos como o *Aspergillus* spp que se desenvolvem na cevada cervejeira a partir de 13,5% - 14% de umidade. O teor de umidade na cevada cultivada é de 13,61 %. Este valor encontrado pode ser uma das causas de alta contaminação fúngica da cevada resultante do período chuvoso ocorrido durante o processo de colheita. Sendo assim, se o único problema da cevada fosse o alto teor de umidade, o processo de secagem garantiria a estabilidade da cevada ao longo da estocagem. Porém, como apresentou alta contaminação fúngica, a carga de micotoxinas deve ser elevada o que não a viabiliza para a utilização na indústria alimentícia. Para a tecnologia cervejeira, os malefícios seriam maiores ainda, uma vez que ocasionam *gushing* na garrafa, o que leva ao espumamento excessivo da garrafa e até explosão das garrafas ao longo do armazenamento. Em latas, pode ocasionar o estufamento das latas e perda de CO<sub>2</sub> ao longo do tempo de prateleira.<sup>7</sup>

Com relação ao poder germinativo, o qual representa a quantidade de grãos vivos, em porcentagem o valor encontrado foi de 95% e está de acordo com a legislação.<sup>5</sup> Já para os valores encontrados para a energia germinativa (93%), a qual determina, em porcentagem, a quantidade de grãos que germina quando submetidos a água, ou seja, determina se os grãos já ultrapassaram o período de dormência e se já estão aptos a germinar. Segundo Kunze, os valores são considerados bons quando apresentam valores superiores a 95%. Nesse caso, 7% dos grãos não sofrerão germinação e impactarão negativamente no processo cervejeiro em aspectos relacionados à moagem, viscosidade e clarificação.<sup>7</sup> Segundo Bamforth, quanto maior for à quantidade de cevada no mosto, maior será a viscosidade deste, o que pode prejudicar o processo de filtragem e, conseqüentemente, a clarificação.<sup>60</sup>

A análise de sensibilidade à água informa em que condições a maceração deverá ocorrer, isto é, quanto maior a sensibilidade, menor será o tempo submerso em água e maior o tempo de aeração em fase seca. O resultado da sensibilidade à água obtido foi de 28 %. Conforme Kunze, a cevada é classificada como sensível à água, ou seja, recomenda-se realizar aerações em períodos secos por tempos maiores que submersos em água.<sup>7</sup>

A cevada utilizada apresentava grãos de tamanhos variados em função da heterogeneidade do cultivo. Desta forma, a malteação foi considerada como heterogênea, por conter grãos de 1ª qualidade (cevada cervejeira, grãos maiores) e 2ª qualidade (cevada forrageira, grãos menores). A cevada forrageira não possui qualidade para fabricação de malte e cerveja, portanto é utilizada para fazer ração animal. O processo de malteação foi iniciado, porém o surgimento de hifas na primeira etapa de maceração acabou inviabilizando o processo de malteação, uma vez que a contaminação fúngica contida na cevada e, conseqüentemente, a quantidade de micotoxinas no malte e na cerveja serão muito superiores e prejudiciais ao produto final.

Sendo assim, os experimentos utilizando a CEV01 foram suspensos uma vez que não está apta ao processo por não poder ser utilizada na indústria alimentícia.

## 5.2 - Resultados da Cevada

A cevada que apresentou melhor desempenho em campo nos quesitos produtividade e adaptação ao clima foi avaliada e processada. Inicialmente, apresentou teor de umidade de 7 %, e teor de proteína total de 13,2%, acima da recomendada pela literatura. Para as análises de poder germinativo ela apresentou 98% dos grãos germinados.

De acordo com Portaria nº 691 de 22 de Novembro de 1996, valores de poder germinativo precisam estar acima de 95% e o teor de proteína abaixo de 12 % para ser considerada de qualidade cervejeira.<sup>61</sup> Gouveia e colaboradores citam valores de 93 a 100% de poder germinativo para cevadas cultivadas em território nacional dependendo da variação de cevada.<sup>62</sup> Silva e co-autores encontraram em cevadas cultivadas no DF valores de poder germinativo entre 97 e 100%. Portanto, nesse quesito a cevada em questão se enquadra para tal fim.<sup>3</sup>

O teor de proteína elevado da cevada ocasiona um escurecimento da cevada durante a secagem para a produção de malte, devido a reações de *Maillard* que tem aminoácidos como reagentes. Dessa forma, o processo de produção de malte da cevada cultivada na região Centro-Oeste apresenta potencial para a produção de maltes especiais.

Ainda, Silva e colaboradores relataram para energia germinativa valores de 92 a 100% dependendo da variação de cevada. Para a cevada em questão, foi encontrado valores de 97%.<sup>3</sup> Se os valores apresentados fossem inferiores ao esperado e os valores de poder germinativo fossem o mesmo, pode-se afirmar que há grãos em dormência, ou seja, não estão aptos a germinar no momento desejado. Sendo assim, substâncias como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ácido giberélico poderiam ser utilizadas a fim de estimular o desenvolvimento de grãos dormentes a iniciar a germinação. Dessa forma, a análise de poder germinativo não mede as sementes aptas a germinar durante o processo de malteação e, sim, a quantidade de grãos vivos. Enquanto a energia germinativa expressa a quantidade de grãos aptos a germinar nas condições de malteação.

Os valores encontrados de sensibilidade a água foram de 21%. Essa análise dá um direcionamento sobre o quanto de água o grão deve ser exposto durante o processo de malteação. Caso o valor seja muito baixo (<10%) é um indicativo que a germinação pode ser afetada por excesso de umidade. Segundo Kunze, quanto maior o valor de sensibilidade a água, menor deve ser o tempo de maceração, primeira etapa da malteação. Ele também comenta que valores de 26% a 45% de sensibilidade são comuns em cevadas.<sup>7</sup>

Diante dos resultados observados para essas análises, o processo de malteação foi conduzido sem aditivos, uma vez que as análises da cevada em termos de capacidade de germinação estão de acordo com o esperado. Caso a cevada não apresente capacidade de germinar, o malte final terá uma maior quantidade de grãos que não passaram pelo processo de ativação das enzimas, o que conduz a um malte de baixa atividade enzimática. O fato se soma a não observação de mudança física dos grãos pela atividade da  $\beta$  glucanase o que ocasiona um malte de baixo rendimento no processo cervejeiro.<sup>63</sup>

O alto teor de proteína pode inviabilizar o processo em termos de produção de malte *Pilsen* que apresenta coloração entre 2 e 6 EBC. Porém, representa uma oportunidade para a obtenção de maltes especiais de coloração escura que possuem valor de mercado superior ao malte *Pilsen*.

Como a utilização de malte no Brasil antes do surgimento das microcervejarias se resumia em malte *Pilsen*, era necessário apenas maltes de alto rendimento de caldeira, na qual cevadas com alto teor proteico não se enquadravam. Com as novas necessidades de mercado, maltes com teor elevado de proteína podem fornecer uma cremosidade diferenciada na espuma bem como uma coloração única, seja na produção de estilos renomados como também na criação de receitas típicas com matérias primas exclusivamente brasileira.

A cevada apresentou valores adequados para a produção de cerveja, mas sim valores que não se enquadram a produção do malte tipo *Pilsen*. Controles em sua malteação são necessários pois a mudança física é fundamental para o processo cervejeiro. Se os grãos não estiverem friáveis, podem acarretar em danos para os moinhos na indústria cervejeira devido à rigidez dos grãos, bem como uma

viscosidade muito alta que pode entupir conexões e filtros. Mas, se os grãos forem friáveis, podem ser utilizados na indústria cervejeira em busca de características organolépticas diferenciadas com perda de extrato, mas não em quesitos relacionados a qualidade.

### 5.3 Resultados da Malteação

Durante a maceração, o tempo em que a cevada ficou imersa em água foi igual para as duas amostras. Na Tabela 5, os valores de umidade podem ser observados e nota-se que mesmo em período seco, a cevada continua aumentando o seu teor de umidade. Isso se deve ao fato da respiração da cevada estar diretamente ligada a absorção de água. Dessa forma, ao fazer trocas gasosas, o grão absorve umidade o que tende a intensificar o desenvolvimento embrionário e, conseqüentemente, o desenvolvimento enzimático.

**Tabela 5. Valores de umidade do malte referentes ao processo de maceração.**

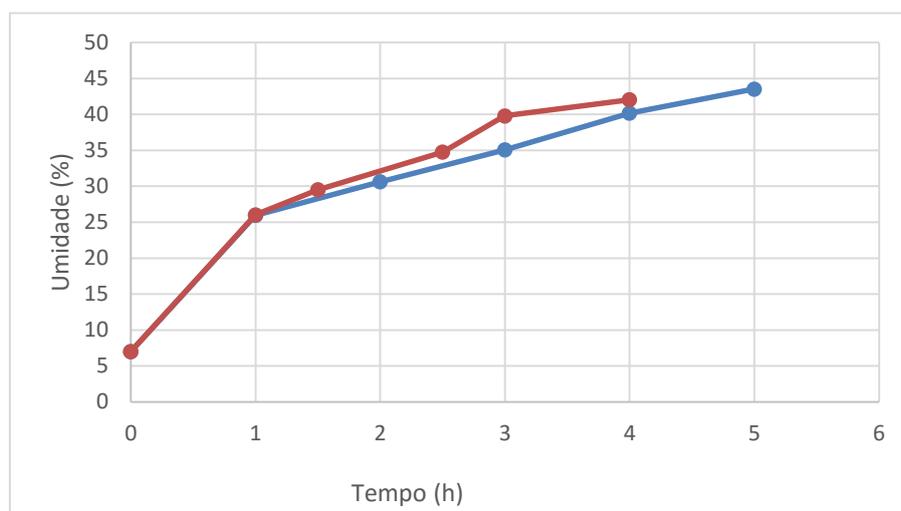
<b>Processo</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>
Fim do 1º período úmido	25,9%	26,0%
Fim do 1º período seco	30,6%	29,5%
Fim do 2º período úmido	35,0%	34,7%
Fim do 2º período seco	40,1%	39,7%
Fim do 3º período úmido	43,5%	42,0%

Os valores demonstram que os resultados obtidos nas análises de cevada, como o grão não é sensível a água, ele absorve umidade apropriadamente para desenvolver a germinação.

A otimização da água utilizada para o processo é um fator importante para o meio ambiente e também para a eficiência econômica de um projeto de maltaria, tal qual o gasto de energia durante a secagem e tempo de processo. Recomenda-se que o teor de umidade após o período de maceração seja superior a 40% para uma adequada germinação.<sup>7,14,23</sup>

O valor de umidade do M2 ficou superior ao do M1 apenas durante o primeiro período úmido, que foi igual para as duas amostras (1 hora), conforme Figura 17. Dessa forma, é compreensível o valor um pouco acima. Porém, em todos os outros períodos o M1 apresentou umidade maior que o M2 o que representa a importância do período seco para a absorção de umidade. A diferença na absorção de umidade das amostras está ligada a metodologia de maceração que foi diferenciada para as duas.

Dessa forma, pode-se inferir que é importante uma otimização do tempo em relação aos períodos no qual o grão fica submerso em relação ao período seco para as variedades de cevada estudadas. Sendo assim, com a mesma quantidade de água, é possível aumentar a velocidade do processo regulando adequadamente os tempos dos intervalos.



**Figura 17.** Teor da umidade da cevada em relação a tempo durante a etapa de maceração. Legenda: Azul representa o M1, Laranja representa o M2.

Na etapa de germinação durante o processo de malteação, segundo Kunze, é necessário que as radículas apresentem o tamanho de 1,5 vezes em relação ao tamanho dos grãos para o malte do tipo *Pilsen* e para maltes escuros 2 vezes o tamanho da cevada.<sup>7</sup> Esse tamanho indica a quantidade de amido que foi consumida durante a germinação. Nos dois períodos, enzima  $\beta$  glucanase já atuou realizando a

mudança física do grão, porém períodos mais longos de germinação ajudam a fornecer aminoácidos e açúcares redutores para reações de *Maillard* e caramelização durante a secagem de maltes escuros, além de entregar um malte mais modificado em termos de amido facilitando a produção de cerveja.

Na Figura 18, o M1 apresentou 0,9 cm de tamanho de grão e 1,3 cm de radícula. Enquanto, o M2 (Figura 19) apresentou 0,7 cm de tamanho do grão e 1,3 cm de radícula. O M1 apresentou um crescimento da radícula condizente com a produção de malte do tipo *Pilsen*. O M2 apresentou um crescimento adequado para maltes mais escuros, o que indica a possibilidade do malte cultivado no Centro-Oeste ser utilizado para produção de maltes especiais, os quais apresentam coloração superior ao malte tipo *Pilsen*.



**Figura 18.** Malte verde após germinação do M1.



**Figura 19.** Malte verde após germinação do M2.

O processo foi prolongado intencionalmente a fim de permitir uma visualização ampla da germinação. Ultrapassando a quantidade normal de dias da germinação, foi possível perceber que a eficiência enzimática não sofre um decaimento. Sendo assim, Santos e colaboradores mostraram o mesmo resultado, porém para um malte germinado por 4 dias. Sendo assim, não são necessários períodos tão longos o que leva a uma economia de energia e de processo.<sup>63</sup>

Como o crescimento das radículas apresentou o tamanho ideal após 200 horas, pode-se indicar esse período como um possível tempo ideal para a germinação da cevada cultivada.

Os ensaios das enzimas  $\beta$  amilase apresentaram um pequeno decréscimo na atividade durante os primeiros dias o que foi relatado por Kunze e Santos. Com 39 h de germinação, seu valor já estava voltando a subir para um valor de 4,9 UI para o M1 e 4,8 UI para o M2.<sup>7</sup> Para o M1 a atividade das enzimas  $\beta$  amilases apresentaram valor maior ao inicial no grão não germinado com 69 h de processo, enquanto o M2 precisou de 87 h para ultrapassar o valor inicial do grão, uma vez que as enzimas  $\beta$  amilase já se encontram na cevada. O processo ocorreu de forma mais lenta que o reportado por Santos, que apresentou maior atividade em relação a inicial com apenas 20 horas de germinação.

Apesar do crescimento da atividade ter sido mais lento, ao final, a atividade foi superior o que indica que um processo adequado na preparação do malte pode conduzir a um malte de qualidade.

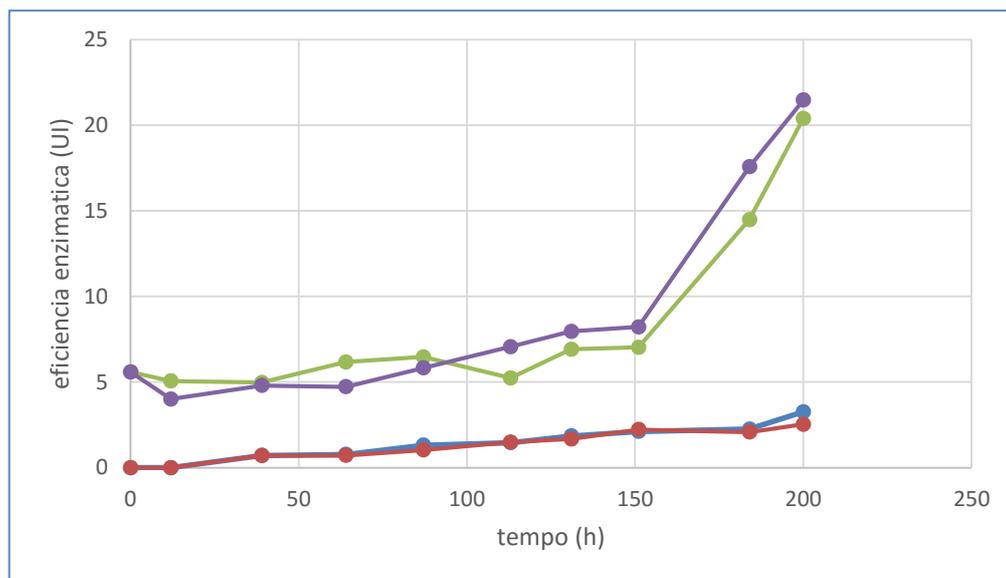
Houve um incremento substancial na atividade das enzimas  $\beta$  amilase para as duas amostras entre os períodos de 150 h e 180 h de germinação, como pode ser observado na Figura 20. Ao final do processo, o M2 mesmo com umidade inicial de germinação menor, apresentou maior atividade de M1 em quesito das enzimas  $\beta$  amilase.

Para as enzimas  $\alpha$  amilase, foi observado valores superiores para o M1 em todas as amostras. Sendo assim, observa-se que o processo de expressão das enzimas  $\alpha$  amilase são mais dependentes da umidade que a expressão das enzimas  $\beta$  amilase para a cevada em estudo.

As atividades enzimáticas dos maltes apresentaram um valor superior ao reportado por Santos. A eficiência enzimática das enzimas  $\alpha$  amilase do malte produzido no laboratório foi de 10 a 23 vezes maior, dependendo do período passado de germinação. Como o crescimento mais alto na atividade ocorreu no período de 150 h a 180 h, esse é um período indicado para germinação tendo em vista as necessidades enzimáticas do malte.

Os valores das enzimas  $\beta$  amilase também apresentaram valor acentuadamente maior do que os reportados por Santos, sendo de 19 a 80 vezes maior, em relação a primeira e a última medida, respectivamente. Seu maior aumento ocorreu concomitantemente com o da enzima  $\alpha$  amilase, corroborando para que 150h a 180h seja um período ideal de germinação para a cevada.

O valor final da atividade do malte ficou até 169 vezes mais baixo do que o demonstrado por Osman.<sup>56</sup> Isso pode ser explicado por diferenças nas origens biológicas da cevada e no caso das enzimas  $\alpha$  amilase no processo de secagem o qual não ultrapassou os 45 °C, que estimula o aumento na atividade dessas enzimas  $\alpha$  amilase. Porém, para as enzimas  $\beta$  amilase esse fato não convém, uma vez que a secagem diminui a concentração aumentando ainda mais a diferença entre os valores.



**Figura 20.** Eficiência enzimática de M1 e M2 para  $\alpha$  e  $\beta$  amilase. Legenda: cinza: enzimas  $\beta$  amilase do M1; amarela: enzimas  $\beta$  do M2; azul, enzimas  $\alpha$  amilase do M1; laranja, enzimas  $\alpha$  amilase do M2.

Os valores obtidos para o malte comercial em relação a atividade das enzimas  $\alpha$  amilase foi de 16,3 UI e para as enzimas  $\beta$  amilase foi de 21,6 UI. Percebe-se que o valor das enzimas  $\beta$  amilase ficou muito próximo do malte cultivado no Centro-Oeste em relação ao malte comercial. Enquanto as enzimas  $\alpha$  amilase apresentou uma atividade comparavelmente menor.

Dessa forma, a otimização do processo é necessária. Pois, as enzimas  $\alpha$  amilase são enzimas que precisam ser estudadas para que os maltes produzidos nessa região do país, estejam com a mesma qualidade que os produzidos na região Sul. Uma possibilidade de correção é a utilização de enzimas exógenas de  $\alpha$  amilase a fim de repor as enzimas necessárias para o processo cervejeiro. Outra possível solução é a utilização de misturas do malte cultivado com maltes comerciais.

#### 5.4 - Resultados do Malte

Os valores de extrato, proteína solúvel e cor do malte podem ser observados na Tabela 6. Os três valores de extrato ficaram discrepantes com as exigências para malte cervejeiro. O valor de extrato segundo Tschöpe deve ser acima de 80% para maltes do tipo *Pilsen* e acima de 65 % para maltes escuros. O valor de 48% e 50%, o qual foi encontrado é abaixo do esperado até mesmo para maltes especiais.<sup>31</sup>

**Tabela 6.** Valores de extrato, proteína solúvel e coloração para os maltes, M1, M2 e malte comercial analisado para comparação.

Maltes	Extrato (%)	Proteína solúvel mg/100g	Coloração (EBC)
M1	50,22	25	12,21
M2	48	27	15,62
Malte comercial	43	23	7,06

Essa diferença poder ser explicado pela centrifugação do extrato preparado para as análises. Sem a centrifugação não foi possível o procedimento de filtração. Dessa forma, a centrifugação foi utilizada para permitir as análises nos equipamentos acessíveis para a pesquisa. O mesmo ensaio foi realizado para o malte comercial em circulação nacional a fim de comparar os resultados. Os valores de extrato do malte produzido em laboratório foram superiores ao do malte comercial, sendo 5% superior em relação ao M2 e 7% superior em relação ao M1.

Sendo assim, sabe-se que o problema está na metodologia de análise e não na amostra laboratorial. Já foram relatados altos valores de  $\beta$  glucanos para as cevadas cultivadas no Centro-Oeste. O impacto que essas substâncias têm na densidade e viscosidade da cerveja/mosto são enormes e extremamente prejudiciais para a filtração da cerveja. Sendo assim, ensaios mais aprofundados de  $\beta$  glucanos e outras formas de avaliação de extrato serão abordados em estudos subsequentes.

O teor de proteína solúvel também ficou abaixo do esperado, segundo Tschope.<sup>48</sup> O valor de proteína solúvel deve estar entre 650 - 850 mg/g. Novamente, o valor esteve acima do encontrado para o malte comercial. Como o valor de proteína total foi alto, acima de 12 %, o esperado era uma taxa de proteína solúvel também alta, afinal o esperado e que sejam diretamente proporcionais.

Uma explicação para esses valores pode estar no fato das proteínas da cevada cultivada no Centro-Oeste apresentarem caráter estrutural e grande parte dela ficar na parte mais densa durante a centrifugação no processo de mosto padrão.

A coloração do malte preparado em laboratório ficou acima do malte comercial. O malte tipo *Pilsen* apresenta coloração < 5 EBC. O valor mais alto pode ser devido às questões na extração, mas também devido ao teor proteico total superior do malte. Sendo assim, de acordo com o que Kunze cita cevadas com altos teores de proteína total são bons para a produção de maltes especiais mais escuros. A coloração do malte ficou próxima do malte comercial conhecido como Cara 20, o que indica o potencial da cevada cultivada no Centro-Oeste para ser utilizado na produção de maltes especiais.<sup>7</sup>

As dificuldades encontradas na utilização de uma matéria prima com características bioquímicas diferentes já eram esperadas. O fato do extrato ter ficado mais elevado que o do malte comercial é um fato positivo, uma vez que o rendimento de caldeira é um dos parâmetros mais importantes para a comercialização em grande escala, visto a importância dele na receita cervejeira e de seu valor econômico.

Devido ao extrato alto, e o teor de  $\beta$  glucanos é necessário que sejam feitos ensaios em escala piloto para medir os impactos do malte em uma produção de cerveja. Como a quantidade de cevada era pequena, próximo aos 3 kg, não foi possível a realização de um teste em escala piloto.

O teor de proteína ficou muito próximo ao do malte comercial o que é ponto importante visto o impacto da falta de aminoácidos na produção de cerveja, típica de cervejas com excesso de adjuntos, as cervejas “*mainstream*.” Como os valores foram superiores, isso pode ser um incentivo a utilização desse malte por indústrias que utilizam adjuntos, uma vez que ele pode equilibrar o teor proteína solúvel e contribuir com a coloração final da cerveja.

Todos os pontos diferentes do malte podem impactar positivamente e negativamente na cerveja. A receita cervejeira combina insumos a fim de criar um produto equilibrado que agrade ao paladar e ao olfato. O malte produzido com a cevada cultivada no Centro-Oeste apresentou valores dentro do esperado para maltes cervejeiros, o que indica que se utilizado de maneira adequada em uma receita cervejeira, que considere suas características, ele irá impactar de maneira positiva a produção.

Testes mais específicos na utilização direta dentro de uma escala de produção cervejeira é a última etapa para consolidar o malte como tendo características cervejeiras. Novas pesquisas, principalmente na área da degradação dos  $\beta$  glucanos, podem transformar o malte em um produto não apenas de qualidade cervejeira, mas também em um insumo típico da região, que traz consigo as características botânicas da cevada da região bem como do solo que fornece nutrientes ao cultivo.

### **5.5 – Proposta de uso**

Devido à coloração obtida para o malte final, que foi uma consequência direta do teor proteico da cevada, a produção de malte *Pilsen* tendo como precursor essa cevada é inviável. As temperaturas utilizadas para a secagem revelaram que a cevada apresenta qualidade considerável para a produção de maltes de coloração até 20 EBC. Maltes mais escuros utilizam temperaturas mais altas de secagem extrapolando a curva. Assim, pode-se inferir que um tratamento diferente durante a secagem poderia se chegar a maltes mais escuros com coloração de 50 – 100 EBC.

Para a produção de maltes especiais, coloração de 20 – 50 EBC é recomendável uma germinação de, no mínimo 150 horas, não ultrapassando às 180 horas. Tempo excessivos são exageros devido a perdas no extrato e capacidade produtiva. Uma secagem que não ultrapasse os 75°C, nem permaneça a essa temperatura por mais de 6 horas, permite a regulação da coloração do malte.

Caso o rendimento de caldeira seja muito baixo, a utilização de adjuntos pode ser uma saída adequada. O alto teor proteico permite a utilização de adjuntos sem perdas na qualidade da fermentação ou espuma devido a falta de proteínas. Como o valor de proteínas solúveis foi superior ao do malte comercial, pode-se inclusive inferir sobre aumentar a relação malte/adjunto, uma vez que o malte cultivado no Centro-Oeste mostrou características condizentes em termos proteicos de ser substituído por adjunto.

## 6. CONCLUSÕES

Diante do exposto, foi possível constatar que a cevada cultivada na região Centro-Oeste sem irrigação artificial (CEV 01) não apresenta potencial para o uso na indústria alimentícia, uma vez que apresentou carga microbiana elevada. Sendo assim, a irrigação artificial é fundamental para a indústria malteira.

O malte obtido a partir da cevada irrigada apresentou características suficientes para ser utilizado na produção de cerveja. Mesmo com teor proteico fora de especificação e a cevada não sendo classificada como cervejeira existe uma revolução acontecendo na demanda de maltes no Brasil. Para conseguir atender é necessário que novos processos sejam estudados e que cevadas diferenciadas possam ser usadas para se produzir maltes diferenciados.

Dentro da metodologia aplicada no projeto, a cevada se mostrou uma saída para a produção de maltes com colorações superiores a 20 EBC. Esses maltes são utilizados para fornecer coloração dourada e sabor maltado em cervejas. Ou, se submetido a condições especiais de secagem, podem conferir maior coloração para a cerveja e aromas e sabores torrados.

Como o malte obtido é classificado como especial, não apresenta as características definidas em legislação vigente. Portanto, recomenda-se uma avaliação das Leis relacionadas ao processo de malteio e cervejeiro, afim de atender as inovações que surgirão no mercado.

Sobre a qualidade de cevada cervejeira visando à produção em grande escala, não recomenda-se a blenda dessa cevada com as demais. Porém, um lote individualizado deve ser conduzido a fim de adequar as mudanças necessárias a novas matérias primas. Não se podem descartar possibilidades e matérias primas sem avaliação prévia, nesse sentido pode-se citar as cevadas de 2 grãos sendo utilizadas por cevada de 6 grãos por espigas.

Mesmo a cevada de 2 grãos por espiga ser a mais recomendada para processos cervejeiros devido a seu alto rendimento de caldeira, a de 6 grãos é cultivada e malteada em várias regiões do mundo. Dessa forma, pode-se indicar que a cevada cultivada no Centro-Oeste pode ser utilizada na indústria cervejeira e ainda suprir uma demanda existente em maltes especiais.

Por ser um trabalho pioneiro, algumas dificuldades foram encontradas e novos desafios ainda surgirão com relação a novas variedades de cevada. Portanto, os resultados se mostraram bastante satisfatórios, mesmo não atendendo a legislação, o que caracteriza esse trabalho como inovador ao cenário produtivo de malte nacional.

Como sugestão para trabalhos futuros, há a questão das  $\beta$  glucanases que tem um efeito direto na qualidade do malte final e suas análises já estão bem descritas na literatura. Na secagem do malte também existe a possibilidade de pesquisa, principalmente na área de formação e eliminação de DMS e na produção de substâncias responsáveis pelo aroma.

Como testes finais ainda falta a utilização do malte em escala piloto, o que permite o estudo relativo a misturas do malte com adjuntos e com maltes comerciais para a produção de uma cerveja dentro dos parâmetros adequados.

## 7. REFERÊNCIAS

- 1 Revista Indústria de Bebidas; edição 2010; ano 9; num 55
- 2 ABRABE. Categorias. Disponível em: < <http://www.abrabe.org.br/categorias>>. Acesso em: 30/05/2016
- 3 Silva, A. R, Andrade, J.M.V; Pesq. Agropec. Bras. **1985** 20(7) 807.
- 4 Yokoyama, L.P, Igreja, A.C.M; Pesq. Agropec. Bras. **1992** 27(5), 727
- 5 <http://www.ivegetal.com.br/Legisla%C3%A7%C3%A3o%20Referenciada/Lei%20N%C2%BA%208.918%20de%2014%20de%20julho%20de%201994.htm>; acessado em maio de 2016.
- 6 Silveira, R.G; Universidade Estadual Paulista; Dissertação de mestrado; 2009.
- 7 Kunze, W; Technologie Brauer Malzer. 7<sup>th</sup> ed, Ed VLB, Berlin A/e, 1994
- 8 Borges, P.F.O; Universidade Estadual Paulista; Monografia; 2009
- 9 Junior, O.C, Junior, J.R.T, Rawet, E.L, Silveira, C.T.J; BNDES Setorial 40, pag 93-130
- 10 [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do139\\_2.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do139_2.htm). acessado em maio de 2016
- 11 Wakeling, H. L, Vriesekoop, F; Journal of Cereal Science **2012**, 56,30o
- 12 <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/00000016352902102014294311519477.pdf><http://www.brasilcomex.net/integra.asp?cd=263>; acessado em maio de 2016.
- 13 Porto, P. D; Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Monografia. 2011.
- 14 Lotterman, M.T; Universidade de Brasília; Dissertação de Mestrado; 2012.
- 15 Leonel, M; Ciênc. Tecnol. Aliment, **2007** 27(3): 579

- 16 D'Avila, R.F, Luvielmo, M.M, Mendonça, C.R.B, Jantzen, M.M; Estudos Tecnológicos em Engenharia, **2012**, 8, 60.
- 17 Roberta C. R. Souza e Cristina T. Andrade; Ciência e Tecnologia, **2000**, 10, 24
- 18 PAZUR, J.H, ANDO, T; The Journal of Biological Chemistry, **1960** 235 2
- 19 Corradini, E, Lotti, C, Medeiros, E.S, Carvalho, A.J.F, Curvelo, A.A.S, Mattoso, L.H.C;: Ciência e Tecnologia, **2005**, 15 (4) 268
- 20 Zeeman SC, Kossmann J, Smith AM; Annu Rev Plant Biol. **2010**, 61, 209
- 21 Novack, M.M.E; Universidade Federal de Santa Maria; Dissertação de mestrado; 2010
- 22 Scmitt. M. R; Skadsen. R. W; Budde. A. D; Journal of Cereal Science **2013** 58, 324
- 23 Conti, R, Rodrigues, J.A.R, Moran, P.J.S; Quim. Nova, **2001**, 24 (5), 672
- 24 FERREIRA, A.C.M; Universidade Federal de Pernambuco; Dissertação de mestrado, 2014.
- 25 ZORZIN, F.M; Universidade de Brasília; Dissertação de mestrado, 2014.
- 26 Miao, J, Fan, Y , Li, J , Fu, D; Agricultural Sciences, **2013**, 49B, 5
- 27 Shitakubo, R. A; Universidade de São Paulo; Tese de Doutorado; 2015
- 28 Bush, D.S; Sticher, L; van Huystee, R; Wagner, D; Jones, R.L; THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, **1989**, 264(32), 19392
- 29 <https://pt.malteurop.com/os-nossos-dominios/cevadas/cevadas-para-fabrico-de-cerveja>; acessado em 30 de maio de 2016
- 30 <http://charlesbrenson.blogspot.com.br/2010/08/do-grao-ao-copo-ingredientes-malte.html>; acessado em maio de 2016.
- 31 Tschope,E.C NIHEL F A; A malteação da cevada vassouras seinao rj 199 pag 272

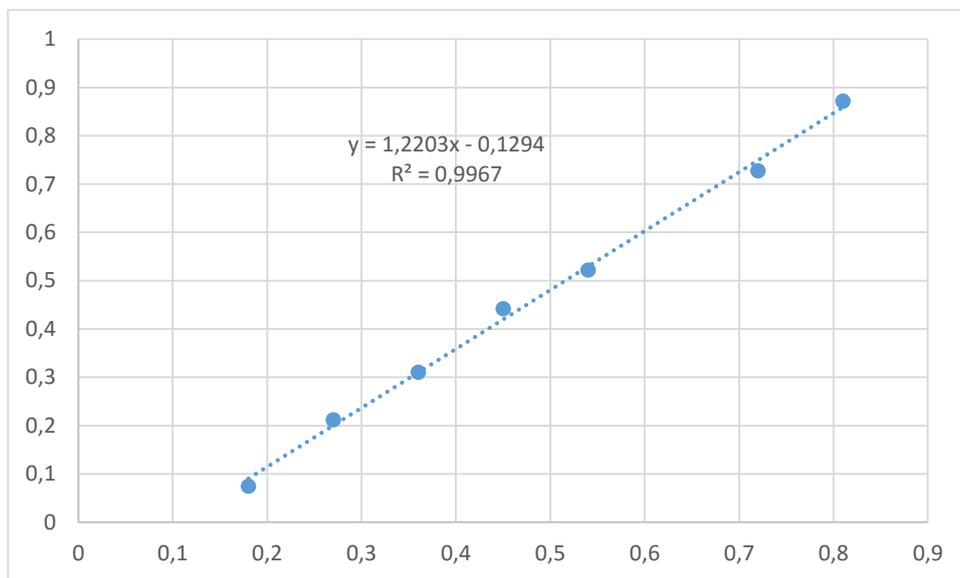
- 32 Costa, C.M; Zimmer, P.D; Villela, F.A; Ver Cient Rural **2011**, 13 (1), 226
- 33 Olsen, O.A; The plant cell, **2004**, 16, 214
- 34 Priest, F. Campbell, I; Springer Science & Business Media; 3º Edição, 2009.
- 35 Wafa, G.; Boivin, P.; Ouarnier, N.; Fournier, F.; Fick, M.; Process Biochemistry; **2008**, 43, 311
- 36 Gorzolka, K; Lissel, M; Kessler, N., Loch-Ahring, S.; Niehaus, K; Journal of Biotechnology, **2012**, 159, 177
- 37 BARTON , P. A; FINCHER, G. B; Journal of Cereal Science **1987**, 5(1), 45
- 38 Evans,, D.E, Wallace, W; Lance, R.C.M; MacLeod, L.C; Journal of Cereal Science **1997**, 26 (2), 241
- 39 Sung, H. G.; Shin, H. T.; Ha Lai, J. K.; H. L.; Cheng, K. J.; Lee, H. H.; Bioresource Technology, **2005**, 96(11) 1297.
- 40 Kleinwächter, M; Meyer, A.K; Selmar, D; Food Chemistry, **2012**, 132, 476
- 41 Zhang, N., Jones, B.L., 1995; J Cereal Science, **2012**, 21, 145
- 42 harma, P.; Gujral, H. S.; Food Research International, **2011**, 44, 235
- 43 Zhao, F.J; Fortune, S, Barbosa, V. L; Journal of Cereal Science, **2006**, 43, 369
- 44 Nursten. H; Cambridge. The Royal Society of Chemistry; **2005**.
- 45 <http://howtobrew.com/book/section-3>, acessado em maio de 2016
- 46 Siqueira, P.B; Bolini, H.M.A, Macedo, G.A; O Alim. Nutr, **2008**, 19, 491
- 47 Hendges, D.H; Universidade de São Paulo; Tese de Doutorado; 2014.
- 48 Tschope, E.C; Microcervejarias e cervejarias, A história, a arte e a tecnologia. 1<sup>th</sup> ed, São Paulo, 2001
- 49 <http://www.hominilupulo.com.br/cervejas-caseiras/brassagem-avancada>; acessado em maio de 2016

- 50 Silva, P.H.A; Faria, F.C; Ciênc. Tecnol. Aliment, **2008**, 28, 4
- 51 Mega, J.F; Neves, E; Andrade, C.J; Revista Citino, **2011**, 1, 1.
- 52 GHESTI, G. F.; GUPTA, V. K.; ZEILINGER-MIGSICH, S. ; FERREIRA FILHO, E. X.; DURAN, C. ; PARACHIN, N. S. . Microbes in Wine and Beer Industries. Microbial Applications: Recent Advancements and Future Developments. 1<sup>th</sup> ed: Brasilia 2016,
- 53 Nelson. D.L; Cox, M.M; Lehnigher Principios de Bioquimica; 6<sup>th</sup> ed, EUA editora Artmed 2014.
- 54 Mattana, C.S; Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Monografia; 2012
- 55 Análise físico-química de alimentos; Instituto Adolf Lutzer; 4<sup>th</sup> ed; 2005
- 56 OSMAN. A. M; J. Inst. Brew, **2002** 108(2), 204
- 57 Simedly, S. M; J. Ins Brew; **1992**; 98; 497
- 58 Bradford, M. Analytical Biochemistry. **1976** 72, 248
- 59 TUNES, L. M; Biosci. J. , Uberlândia, 1976, 26(3), 403
- 60 BAMFORTH, C. W. Beer: Tap into the Art and Science of Brewing. 2<sup>th</sup> ed, Oxford University Press, New York, 2003.
- 61 [http://www.codapar.pr.gov.br/arquivos/File/pdf/cevadaindus691\\_96.pdf](http://www.codapar.pr.gov.br/arquivos/File/pdf/cevadaindus691_96.pdf);  
acesso maio de 2016
- 62 GOUVÊA , L. F. C.; MAIA , G. D; Blucher Chemical Engineering Proceedings **2014**, 1, 1
- 63 Santos, I.J; Santos, Y.L 2, Oliveira, M.G.A; Silva, P.H.A; Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, **2010**, 2(1), 67

# **ANEXO I**

**(Tabela de maltes e Curva analítica)**

A Figura A1 apresenta a curva analítica de maltose para os ensaios de atividade enzimática. O coeficiente linear encontrado foi de 0,9967.



**Figura A1:** Eixo X concentração de maltose e Eixo Y a absorbância da solução com DNS a 540nm.

Tabela A1: Classificação de maltes comerciais

Pilsen	2,5 – 6,5	>75	Base
Vienna	4 – 9	>75	Base
Pale Ale	5,5 - 10	>75	Base
Munich	17 - 28	>75	Base
Cara 50	40 - 60	74 - 78	Especial
Cara 120	110 -130	73 - 78	Especial
Melano	70 - 85	75 – 78	Especial
Cafe	420 - 520	75	Especial
Chocolate	800 - 1200	65 - 75	Especial
Black	1200 - 1450	70	Especial

# ANEXO 2

*(Curriculum Lattes)*