

12º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP - 2021

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A APLICAÇÃO DE ENZIMAS EXÓGENAS NA PRODUÇÃO DE CERVEJA

LIDIANE CRISTINA MÓI¹, JEAN CARLOS RODRIGUES DA SILVA²,

¹ Graduanda em Licenciatura em Química, Bolsista PIBITI, IFSP, Câmpus Sertãozinho, lidiane.moi@aluno.ifsp.edu.br

² Biólogo, Doutor em Bioquímica, Professor do IFSP Câmpus Sertãozinho, jeanrodrigues@ifsp.edu.br

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 2.08.05.00-4 Enzimologia

RESUMO: As enzimas são substâncias naturais que atuam como catalisadoras de reações químicas, no processo de mosturação da cerveja as principais enzimas envolvidas são as α -amilases e β -amilases, que são responsáveis pela quebra de amido. Em alguns casos, as enzimas presentes no malte apresentam uma série de problemas, tais como baixo rendimento de extrato, fermentação lenta, dificuldades na filtração. Muitos estudos verificam a viabilidade de complementação do mosto com a adição de enzimas exógenas como solução para esses problemas. O presente trabalho apresenta uma revisão da literatura sobre a aplicação de enzimas exógenas nos processos de mosturação da produção de cerveja, a fim de avaliar as possibilidades de inovação no setor. A busca de dados realizou-se nas bases de dados Scielo, Science Direct e Scopus por meio do Portal de Periódicos CAPES. Assim, observou-se que o uso de enzimas comerciais apresenta ação efetiva na melhora da qualidade do mosto, minimizando possíveis problemas e permitindo a produção de cervejas com características semelhantes as obtidas com cevada maltada.

PALAVRAS-CHAVE: enzimas comerciais; mosturação; malte.

BIBLIOGRAPHIC REVIEW ON THE APPLICATION OF EXOGENOUS ENZYMES IN BEER PRODUCTION

ABSTRACT: Enzymes are natural substances that act as catalysts for chemical reactions. The main enzymes involved in mashing process of beer are α -amylases and β -amylases, which are responsible for breaking down starch. In some cases, the enzymes of malt present a some problems, such as low extract yield, slow fermentation, difficulties in filtration. Many studies verify the feasibility of supplementing the wort with the addition of exogenous enzymes as a solution to these problems. The present work presents a literature review about application of exogenous enzymes in the mashing processes of beer production, in order to evaluate the possibilities of innovation in the sector. The data search was carried out in the Scielo, Science Direct, and Scopus databases through the CAPES Periodical Portal. Thus, it was observed that the use of commercial enzymes has an effective action in improving the quality of wort, minimizing possible problems and allowing the production of beers with characteristics like those obtained with malted barley.

KEYWORDS: commercial enzymes; mashing; malt.(Times New Roman, 11, Justificado).

INTRODUÇÃO

O setor cervejeiro no Brasil tem apresentado um crescimento considerável nos últimos anos. Atualmente o país conta com cerca de 1383 cervejarias, responsáveis por 1,6% do PIB do país e pela geração de 2,7 milhões de empregos (CERVBRASIL). O processo de produção cervejeira pode ser dividido em quatro estágios: produção de malte (malteação), produção de mosto, fermentação e finalização. Durante todo o processo as enzimas endógenas (provenientes do malte) possuem papéis fundamentais na produção das cervejas, devido a capacidade de hidrólise do amido, proteínas e β -glucanos. As enzimas endógenas são geradas no processo de malteação, entretanto, muitos estudos apresentam a possibilidade de complementação do mosto com a adição de enzimas exógenas, como método de solução de possíveis problemas, que frequentemente surgem durante o processo de produção (PINHEIRO, L. DI G. S., 2017). O objetivo deste artigo foi realizar uma revisão da literatura sobre a aplicação de enzimas exógenas nos processos de mosturação da produção de cerveja, a fim de avaliar as possibilidades de inovação no setor.

MÉTODOS

A metodologia aplicada fundamentou-se na revisão bibliográfica sobre o efeito da aplicação de enzimas exógenas nos principais processos cervejeiros. A busca de dados realizou-se nas bases de dados Scielo, Science Direct e Scopus por meio do Portal de Periódicos CAPES, com a pesquisa dos seguintes termos: "exogenous enzymes and beer"; "commercial beer and enzymes"; "exogenous enzymes and mash"; "commercial enzymes and beer". A busca de dados limitou-se às línguas inglesa e portuguesa e os artigos selecionados e analisados foram aqueles que apresentaram maior relevância, publicados no período entre 2017 e 2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo a Instrução Normativa Nº 65, de 10 de dezembro de 2019 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento que regulamenta a Lei nº 9.902, de 08 de julho de 2019, a cerveja pode ser definida como “a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro” (BRASIL, 2019). Portanto, como mencionado na referida lei, a cerveja possui em sua composição quatro ingredientes principais: água, malte, lúpulo e levedura. Além dos ingredientes principais, a cerveja também pode conter adjuntos, estabilizantes, extratos, frutas, dentre outras matérias-primas.

O malte é produzido a partir da cevada, por meio do processo de malteação. Este processo consiste em três etapas: maceração, germinação e secagem. A partir do malte de cevada, são obtidos as enzimas, carboidratos, açúcares, as proteínas e outros compostos fundamentais em toda a fabricação e no produto final. O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma espécie de angiosperma, que possui compostos importantes que garantem aroma, amargor e outras propriedades à cerveja. As leveduras são microrganismos eucariotos do gênero *Saccharomyces*, responsáveis por metabolizar os açúcares do mosto, originados do malte e dos adjuntos, convertendo-os em dióxido de carbono e álcool, além de contribuir com o aroma e sabor (KUNZE, 2004).

A adição de adjuntos no mosto é recomendada para que seja possível corrigir propriedades que não apresentaram o resultado esperado, mas sem interferir na qualidade da cerveja. É recomendável o uso de cereais não maltados para complementar o malte. Os adjuntos são usados pois, apresentam menor custo com relação ao malte e podem melhorar a produção. Os cereais mais utilizados são arroz, centeio, aveia, sorgo, milho e cevada não maltada (D'AVILA et al., 2012).

MALTE

O malte se constitui como principal matéria-prima da cerveja e a que possui maior impacto no custo da produção. O malte é gerado a partir do processo de malteação, que consiste na germinação e secagem dos grãos. Esse processo ativa as β -glucanases que atuam nas paredes celulares dos grãos. Caso não ocorra a degradação suficiente das paredes celulares durante a malteação, a produção apresentará problemas como acesso restrito ao amido e proteínas do grão durante a mostura, diminuindo o rendimento e a qualidade do produto final. O processo de germinação consiste no desenvolvimento da

planta, essa fase tem como função obter as enzimas para a cerveja perdendo o mínimo possível de extrato (MARTINS, V. M. R.; RODRIGUES, 2015).

ENZIMAS

São substâncias naturais que consistem em cadeias de aminoácidos unidas por meio de ligações peptídicas. Elas atuam como catalisadores de reações químicas, aumentando a velocidade da reação. Elas constituem um componente importante dentro da cerveja, pois reagem convertendo os amidos (durante a etapa de mosturação) em açúcares fermentáveis e dextrinas. As enzimas atuam dentro de faixas de temperatura, sendo que cada enzima possui uma faixa específica, na qual se encontra a reação em sua velocidade máxima, permitindo que ocorra o maior número possível de colisões moleculares. As enzimas mais importantes do processo de mosturação são as proteases, α -amilases e β -amilases. As proteases são responsáveis pela quebra das proteínas e com isso geram moléculas de médio peso molecular, que são importantes no corpo da cerveja e para a nutrição da levedura. Já as α -amilases e β -amilases quebram o amido de forma diferente para gerar os açúcares consumidos na fermentação. As enzimas α -amilases rompem o amido no meio da cadeia glicosídica e as enzimas β -amilases quebram as pontas da molécula, gerando diferentes dímeros de glicose (PINHEIRO, L. DI G. S., 2017).

As enzimas citadas acima se encontram presentes no malte de cevada e são ativadas durante a etapa de brassagem. Em alguns casos, verifica-se que apenas as enzimas presentes no malte podem apresentar uma série de dificuldades durante a fabricação da cerveja, tais como baixo rendimento de extrato, fermentação lenta, dificuldades na filtração, além de uma cerveja inferior em termos de sabor e estabilidade. Portanto, muitos estudos apresentam a complementação do mosto com a adição de enzimas exógenas como solução para os problemas frequentemente encontrados durante a produção. As principais enzimas adicionadas ao processo cervejeiro são as amilases, amiloglucosidases, glucanases, proteases e α -acetato descarboxilase. (CAMARGO, A. L. P., 2019)

As amilases presentes no malte ajudam também na quebra do amido presente nos adjuntos cervejeiros, como, a cevada, trigo, milho, sorgo e arroz. Elas contribuem para a geração de açúcares como glicose e maltose, substâncias indispensáveis para o processo de fermentação e produção do líquido. As amiloglucosidases são enzimas utilizadas para a produção de cervejas tipo light, de baixa caloria e/ou de baixo teor alcoólico. Já as glucanases hidrolisam os β -glucanos presentes no malte de cevada, melhorando a eficiência do processo de filtração da cerveja. As proteases hidrolisam a proteína presente nos cereais gerando quantidade suficiente de aminoácidos para a nutrição da levedura. O α -acetato descarboxilase é uma enzima que atua na fermentação e na maturação da cerveja, reduzindo a produção de diacetil, que pode gerar sabor e aroma amanteigado em cervejas tipo lager. (D'AVILA et al., 2012)

APLICAÇÃO DE ENZIMAS COMERCIAIS NA PRODUÇÃO DE CERVEJA

Em testes realizados com o feijão fava (*Vicia faba* L.), acrescido da adição de enzimas exógenas comerciais a fim de avaliar a viabilidade do seu uso em relação à sacarificação do amido, separação do mosto e cinética de fermentação, a presença da α -amilase foi responsável pela redução do desenvolvimento da viscosidade e volume do mosto, no entanto, a adição de três enzimas exógenas (α -amilase, protease e carboidrase) resultou em uma taxa média de escoamento do mosto melhorada se comparada com um mosto composto de 100% de cevada maltada. O grão de fava não apresentou total capacidade enzimática de sacarificação do amido, no entanto a aplicação de enzimas comerciais resultou em um mosto com viscosidade e capacidade de fermentação semelhantes à um mosto produzido com cevada maltada. (BLACK et al., 2020).

O estudo da interferência inibitória de polifenóis normalmente presentes no mosto cervejeiro, tais como ácido cafeico, ácido ferúlico, quercetina e ácido clorogênico, com o uso de α -amilases, permitiu verificar que o potencial de inibição se mostrou crescente diante da catálise da α -amilase até uma temperatura de 323K. A ação do ácido clorogênico apresenta maior estabilidade na formação de complexos, além de maior sensibilidade em relação à temperatura e maior inibição na temperatura da enzima. O estudo da relação estrutura-atividade demonstra uma ótima relação entre a atividade biológica da α -amilase com os polifenóis, sugerindo a estabilização dos complexos por interação eletrostática entre o íon carboxilato dos ligantes com o sítio ativo da enzima. Dessa forma, a inibição dos polifenóis intrínsecos do malte a determinadas faixas de temperatura exerce influência sob o processo de mosturação da cerveja (VELOSO DE OLIVEIRA; SCHNEEDORF, 2017).

Para estudos de efeito de clarificação e estabilização de cervejas, Cimini e Moresi (2018) utilizaram o preparo enzimático de origem fúngica Brewers Clarex®. A partir de testes indicativos, foi possível identificar a eficácia do preparo enzimático em ambas as cervejas examinadas. Com a combinação da enzima e de polivinilpolipirrolidona (PVPP), as cervejas apresentaram uma maior estabilidade coloidal. A junção do preparo enzimático com a microfiltração de fluxo cruzado, é uma opção possível para substituição do PVPP, tornando o processo mais simples. O uso da Brewers Clarex® em conjunto com a microfiltração de fluxo cruzado tornaria possível delinear uma estabilização simples e eficiente de depuração e clarificação, produzindo uma cerveja estável e límpida. A partir das análises, fica exposto que o preparo enzimático Brewers Clarex® é uma boa alternativa para a substituição do PVPP, especialmente em conjunto da técnica CFMF. O uso de proteases e o PVPP demonstrou melhora na estabilidade coloidal da cerveja e pode ser recomendada no caso de cervejas destinadas ao mercado internacional (CIMINI; MORESI, 2018).

Estudos de viabilidade da substituição parcial do malte de cevada por quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) e os benefícios da aplicação de uma mistura enzimática comercial durante a produção da cerveja foram investigados por Kordialik-Bogacka, Bogdan, Pielech-Przybylska e Michałowska, em 2018. O malte de quinoa apresenta um teor de enzimas hidrolíticas muito baixo em comparação ao malte de cevada, sendo necessário o uso de enzimas exógenas. A análise foi realizada com a utilização do complexo enzimático Brewers Compass®, que consiste em β - glucanase, α - amilase e protease. A cerveja produzida a partir da quinoa em flocos, continha significativamente mais amido e poucos β glucanos do que as sementes de quinoa e o malte de cevada. O uso de enzimas exógenas durante a fermentação da quinoa não demonstrou afetar os valores de pH do mosto. O preparo enzimático não alterou a cor do mosto produzido com quinoa, sugerindo que as atividades proteolíticas e amilolíticas das enzimas não levaram à formação da reação de Maillard. Embora não havendo alteração na cor do mosto, as enzimas tiveram impacto na cor da cerveja, tornando-a mais clara. A viscosidade do mosto com flocos de quinoa foi de 1,75 mPa s-1 e, ao se adicionar a enzima comercial houve uma diminuição de 6% na viscosidade. Na cerveja preparada com 30% de flocos de quinoa, a aplicação de enzimas exógenas diminuiu a viscosidade em 3%, em relação ao nível de cervejas feitas somente com malte. A utilização do coquetel enzimático na maceração dos flocos de quinoa a 30%, resultou em um aumento de 6% no nível de FAN no mosto, mas mesmo com esse aumento, essa taxa é ainda 14% menor que o apresentado no mosto preparado totalmente com malte. A maneira em que foi utilizada a quinoa não interferiu na produção de etanol na cerveja, mas com a adição das enzimas, o teor de etanol foi elevado, atingindo um nível semelhante ao de uma cerveja totalmente maltada. Esse aumento na produção de etanol demonstra que a α -amilase, presente no preparo enzimático, aumenta a hidrólise de dextrinas em açúcares fermentáveis. (KORDIALIK-BOGACKA et al., 2018)

CONCLUSÕES

Com o crescente aumento do setor cervejeiro, os produtores têm buscado cada vez mais meios de aumentar a produção sem que a qualidade do produto final seja afetada. O uso de enzimas comerciais como as Peroxidase comercial (POD), Ondea®Pro, Brewers Clarex® e Brewers Compass®, permitiram por exemplo, que a preparação de cervejas de cevada não maltada ou a partir de outros adjuntos cervejeiros apresentassem características semelhantes às produzidas com cevada maltada. Portanto, a partir desta revisão bibliográfica foi possível observar que os artigos referenciados ao longo deste trabalho dão destaque à ação efetiva das enzimas exógenas, de modo que, sua aplicação se mostrou eficaz na melhora da qualidade do mosto, permitindo a minimização de possíveis problemas frequentemente encontrados na produção.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos meus familiares e amigos por todo o apoio e pela ajuda, que muito contribuíram para a realização deste trabalho. Ao meu orientador pela oportunidade e por todo o apoio durante a elaboração deste trabalho. Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica concedida para a realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BLACK, K. et al. Optimised processing of faba bean (*Vicia faba* L.) kernels as a brewing adjunct. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 127, n. 1, p. 13–20, 28 dez. 2020.
- BRASIL. 2009. Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 6871, de 04 de junho de 2009. Diário Oficial da União, Brasília 05/06/2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/decreto-no-6-871-de-4-de-junho-de-2009.pdf/view>. Acesso em: 25 jan. 2021.
- CAMARGO, A. L. P. Estudo sobre a viabilidade de uso de cevada cultivada na região Centro-Oeste para produção de cerveja. Brasília-DF: UNB-Universidade de Brasília, 2019. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/22631/1/2019_AnaLuisaPinheiroCamargo_tcc.pdf. Acesso em: 10 dez 2020
- CERVBRASIL. Dados do setor. [s. l.], 2020. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/dados-do-setor/. Acesso em: 26 jan. 2021.
- CIMINI, Alessio ; MORESI, Mauro. Combined enzymatic and crossflow microfiltration process to assure the colloidal stability of beer. **LWT**, v. 90, p. 132–137, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez338.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0023643817308873>.
- D'AVILA, R.F.; LUVIELMO, M.M.; MENDONÇA, C.R.B.; JANTZEN, M.M. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, Santa Maria, RS, v.8, n.2, p.60-68, 2012.
- ENGARRAFADOR MODERNO. A utilização de enzimas no processo cervejeiro. Disponível em: <https://engarrafadormoderno.com.br/ingredientes/a-utilizacao-de-enzimas-no-processo-cervejeiro>. Acesso em: 17 dez. 2020.
- GOVERNO DO BRASIL. Anuário da Cerveja-2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/publicacoes/anuario-da-cerveja-2019>. Acesso em: 11 jan. 2021.
- KORDIALIK-BOGACKA, Edyta; BOGDAN, Paulina; PIELECH-PRZYBYLSKA, Katarzyna; *et al.* Suitability of unmalted quinoa for beer production. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 13, p. 5027–5036, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez338.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1002/jsfa.9037>.
- KUNZE, W. Technology brewing and malting. [S.l: s.n.], 2004.
- MARTINS, V. M. R.; RODRIGUES, M. Â. Produção e tecnologia de cereais: processo de maltagem da cevada. p. 13–14, 2015.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. [s.l.]: , [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>.
- PINHEIRO, L. G. S.; BRASIL, V. C. B.; GHESTI, G. F. Caracterização do malte produzido com cevada do cerrado brasileiro. *Revista Latino Americana de Cerveja*, v. 1, n. 1, p. 63–72, 2017.
- ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. v. 37, p. 98–104, 2015
- VELOSO DE OLIVEIRA, G. A.; SCHNEEDORF, J. M. Equilíbrio químico e cinética enzimática da interação de α -amilase com compostos fenólicos encontrados em cerveja. **Química Nova**, 19 maio 2017.