

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DE CERVEJAS ARTESANAIS PRODUZIDAS COM ENZIMA GLUCOAMILASE

*PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS OF CRAFT BEERS PRODUCED WITH
GLUCOAMYLASE ENZYME*

*ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE CERVEZAS ARTESANALES PRODUCIDAS CON
ENZIMA GLUCOAMILASA*

Efracin Alves Grangeiro¹
Luciane de Godoi²

Resumo

Esta pesquisa foi realizada de forma experimental, por meio de análise físico-química de cervejas artesanais produzidas com a enzima glucoamilase — ou AMG — como coadjuvante tecnológico, a fim de comprovar a total hidrólise do amido devido à sua capacidade de quebra das ligações α -1,4 e α -1,6 das cadeias de amilopectina. Estas, por sua vez, levam à conversão de dextrinas em açúcares fermentescíveis. A AMG aumenta a hidrólise do amido que tenha eventualmente permanecido no mosto após a mosturação, resultando em uma cerveja mais seca (baixo corpo) e com maior teor alcoólico como a Brut IPA ou cervejas light, por exemplo. Para isto, foram realizadas análises físico-químicas de pH, teor alcoólico, sólidos solúveis, açúcar total e densidade em cerveja produzida com e sem a adição da enzima. Observou-se o consumo de açúcar não fermentável presente no mosto pelas leveduras, bem como possíveis alterações nas características do produto, possibilitando a verificação dos padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria de acordo com a IN n° 65/2019 do MAPA (BRASIL, 2019). A metodologia seguiu as recomendações de Pinto (2007), Zenebon, Pascuet, Tiglea (2008), Moretto (2008) e Mafra (2018) e o resultado foi a média aritmética de três ensaios realizados para cada análise. Ao final do experimento, os resultados foram satisfatórios, comprovando-se menor percentual de açúcar no produto contendo a enzima em estudo. Os demais parâmetros físico-químicos se mantiveram dentro dos padrões exigidos pela legislação.

Palavras-chave: análise físico-química; cerveja artesanal; glucoamilase; Lane-Eynon.

Abstract

This research was carried out experimentally, through physical-chemical analysis of craft beers produced with the enzyme glucoamylase — or AMG — as a technological adjunct, to prove the total hydrolysis of starch due to its ability to break the α -1,4 and α -1,6 bonds of the amylopectin chains. These chains lead to the conversion of dextrans into fermentable sugars. AMG increases the hydrolysis of starch that has eventually remained in the wort after mashing, resulting in a drier beer (low body) and higher alcohol content, such as Brut IPA or light beers, for example. For this purpose, physicochemical analyzes of pH, alcohol content, soluble solids, total sugar, and density in beer produced with and without the addition of the enzyme were performed. It was observed the consumption of non-fermentable sugar present in the wort by the yeasts, as well as possible changes in the characteristics of the product, allowing the verification of the identity and quality patterns for the brewery products according to the Normative Ruling n°. 65/2019 of MAPA (BRASIL, 2019). The methodology followed the recommendations of Pinto (2007), Zenebon, Pascuet, Tiglea (2008), Moretto (2008), and Mafra (2018) and the result was the arithmetic mean of three tests performed for each analysis. At the end of the experiment, the results were satisfactory, proving a lower percentage of sugar in the product containing the enzyme under study. The other physicochemical parameters remained within the standards required by the legislation.

Keywords: physical-chemical analysis; craft beer; glucoamylase; Lane-Eynon.

¹ Bacharel em Química no Centro Universitário Internacional UNINTER. E-mail: efracin2007@hotmail.com.

² Docente no Centro Universitário Internacional UNINTER. E-mail: luciane.g@uninter.com.

Resumen

Esta investigación se realizó de forma experimental, por medio de análisis físicoquímico de cervezas artesanales producidas con la enzima glucoamilasa — o AMG — como coadyuvante tecnológico, a fin de comprobar la hidrólisis total del almidón, debido a su capacidad de romper los enlaces α -1,4 y α -1,6 de las cadenas de amilopectina. Estas, a su vez, conducen a la conversión de dextrina en azúcares fermentables. La AMG aumenta la hidrólisis del almidón que eventualmente haya permanecido después de la degradación, que resulta en una cerveza más seca (cuerpo ligero) y con un contenido alcohólico más alto, como la Brut IPA o cervezas light, por ejemplo. Para ello, se realizaron análisis físicoquímicos de pH, contenido alcohólico, sólidos solubles, azúcar total y densidad en cerveza producida con y sin adición de la enzima. Se constató el consumo de azúcar no fermentable presente en el mosto por las levaduras, así como posibles alteraciones en las características del producto, lo que permitió verificar los patrones de identidad y calidad para los productos de cervecería, de acuerdo con la IN n° 65/2019 del MAPA (BRASIL, 2019). La metodología siguió las recomendaciones de Pinto (2007), Zenebon, Pascuet, Tiglea (2008), Moretto (2008) y Mafra (2018) y el resultado fue la media aritmética de tres ensayos realizados para cada análisis. Al finalizar el experimento, los resultados fueron satisfactorios; se comprobó porcentaje inferior de azúcar en el producto que contenía la enzima en estudio. Los demás parámetros físicoquímicos se mantuvieron dentro de los moldes exigidos por la legislación.

Palabras-clave: análisis físicoquímico; cerveza artesanal; glucoamilasa; Lane-Eynon.

1 Introdução

A cerveja é uma bebida equilibrada, de relativamente baixo teor alcoólico e níveis importantes de vitaminas, minerais e antioxidantes úteis ao organismo humano. No mundo contemporâneo, esta é a terceira bebida mais consumida, ficando atrás apenas da água e do café. Contudo, como se trata de uma bebida alcoólica, seu consumo deve ser moderado para que seus efeitos positivos sejam maiores que os negativos (MORADO, 2017). Para isto, faz-se necessário maior conhecimento de suas propriedades e a quebra de alguns tabus acerca dessa bebida.

O dito popular que define a cerveja como uma bebida que engorda, é um mito, uma vez que o sobrepeso, a obesidade e o consumo de cerveja não estão relacionados (JANSSENS *et al.*, 2004). Na verdade, a cerveja é menos calórica do que se imagina; comparada ao vinho tinto, por exemplo, possui apenas 5% de teor alcoólico e 43 cal/100 ml, enquanto o vinho possui entre 11 a 15% de álcool com 85 cal/100 ml. Tais características despertam, cada vez mais, o interesse pelo estudo aprofundado a respeito da química da cerveja e revelam que sua fabricação pode ser feita de maneira simples e artesanal, possibilitando a criação de receitas exclusivas por quem as fabrica. Basicamente a cerveja é composta por água, açúcar, lúpulo e um fungo específico que faz a fermentação produzindo gás carbônico (CO₂) e etanol (C₂H₆O). Esta fermentação pode ser melhorada com a utilização de enzimas durante o processo, para um melhor aproveitamento da conversão do açúcar em álcool.

O objetivo geral deste estudo é analisar as características físico-químicas em cervejas artesanais produzidas com a enzima glucoamilase, especificamente identificando a presença de açúcares não fermentáveis em cervejas industrializadas e comparando os resultados obtidos com as feitas de forma artesanal. Verifica-se a atuação da enzima através de ensaios físico-químicos de pH, teor alcoólico, sólidos solúveis, açúcar total e densidade, comparando os resultados obtidos. Ao final do estudo, poderemos avaliar se o produto obtido com a utilização da enzima encontra-se dentro dos parâmetros exigidos pela legislação vigente. Foram utilizados métodos de análises efetuados em triplicata conforme metodologia de Pinto (2007), Zenebon, Pascuet, Tiglia (2008), Moretto (2008) e Mafra (2018). A análise de densidade (°Brix) realizou-se através de aparelho refratômetro com escala dupla (SG-BRIX). Para determinação do pH foi utilizado aparelho phmetro eletrônico, com indicação dupla (pH e temperatura). Na determinação do teor de açúcar final utilizamos o método de Lane-Eynon com o emprego do reagente de Fehling. A análise do teor alcoólico foi feita através de tabela padrão de densidades inicial e final e determinação com o respectivo valor do percentual de álcool do produto. Para medição da densidade utilizou-se aparelho de densímetro mergulhando o aparelho no líquido e verificando em sua escala o deslocamento ocorrido.

“A cerveja, se bebida com moderação, torna a pessoa mais dócil, alegre o espírito e promove a saúde.” Thomas Jefferson (1743-1826)

2 Análise físico-química de cervejas artesanais produzidas com a enzima Glucoamilase

+...O processo de produção de cerveja é historicamente fascinante, desde milhares de anos nas antigas planícies da Mesopotâmia até a atual tendência mundial de produção artesanal caseira. Cerca de 8000 a.C., povos nômades já cultivavam e colhiam um cereal primitivo que pode ter sido utilizado para fabricar um tipo preliminar de cerveja; achados das civilizações babilônicas apresentam receitas de uma bebida alcoólica produzida a partir de cereais. Com o desenvolvimento das primeiras técnicas de agricultura, o ser humano pré-histórico passou a cultivar grãos que, depois de secos, podiam ser armazenados por grandes períodos, o que permitiu a fixação de grupos ou tribos em determinadas regiões, sem a necessidade de locomover-se em busca de alimentos.

De acordo com Morado (2017), os primeiros campos de cultivo surgiram no oeste da Ásia por volta do ano 9000 a.C. Provavelmente, cevada e trigo selvagem foram escolhidos, em detrimento de outras plantas, porque seus grãos (sementes) são grandes e palatáveis e seu processo de germinação é mais adequado ao plantio. Na Europa, os povos bárbaros de origem

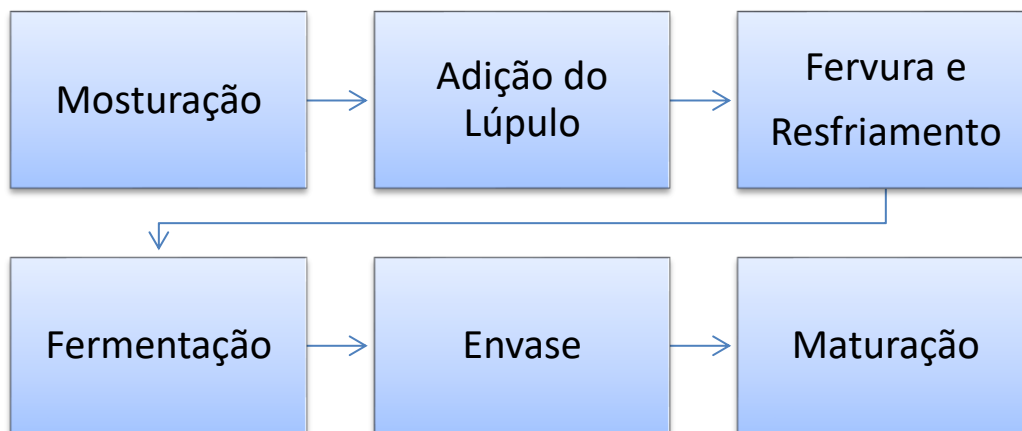
germânica se destacaram na produção de cervejas desde a Idade Média, século XIII, e foram os primeiros a introduzir o lúpulo em sua composição, originalmente contendo água, cevada e levedo, o que conferia características peculiares à bebida que era utilizada como complemento nutricional das refeições diárias. “Era produzida para as classes mais abastadas como forma adicional ao cardápio diário e considerada também como um pão líquido por sua riqueza em vitaminas e minerais” (BELTRAMELLI, 2013, p. 24). Durante a Revolução Industrial, a produção e distribuição de cervejas tiveram notórias mudanças com o estabelecimento de grandes fabricantes na Inglaterra, Alemanha e Hungria. No Brasil, a cerveja foi introduzida por volta de 1808, trazida da Inglaterra pela família real de Portugal. “Caberia lembrar a grande influência comercial (e conseqüentemente cultural) da Inglaterra, na época, sobre Portugal, bem como que no início do século XIX a Inglaterra era, de longe, a maior produtora de cerveja da Europa.” (SANTOS, 2003, p. 12).

Produzir cerveja artesanalmente é relativamente fácil e barato em todas as etapas, que envolvem fabricação, fermentação e envase. As cervejas artesanais são fabricadas por pequenas cervejarias e são consideradas muito superiores às similares fabricadas em grande escala por serem produzidas em pequenos lotes e não conterem substâncias químicas. Além disso, são carbonatadas naturalmente — algo inviável para os grandes produtores. Existem diferentes tipos de processo de fabricação como, por exemplo, utilizando o extrato de malte que requer um mínimo de equipamentos e possibilita o incremento de uma variedade de ingredientes que influenciarão no produto; por outro lado, o método *all-grain* (ou *full-mash*), o ápice da produção artesanal, que exige pesquisa e prática constantes para que se consiga produzir o tipo de cerveja que pretende fazer.

O mercado mundial é dominado pelas grandes companhias produtoras de cerveja, mas nos últimos anos aumentou bastante o número de cervejarias artesanais. Para quantificar esta informação, em 2020 o segmento teve aumento de 14,4% e o número de cervejarias registradas no Brasil passou de 1,3 mil.

A expansão do mercado cervejeiro no Brasil vem crescendo nos últimos dez anos e essa tendência se manteve em 2020 mesmo com as dificuldades impostas pela pandemia”, diz o coordenador-geral de Vinhos e Bebidas do Mapa, Carlos Vitor Müller (O MAPA..., 2021, n. p.).

Cada dia surgem novos consumidores em busca de produtos mais elaborados, estimulando os fabricantes a desenvolverem receitas com novas variações de cervejas.

Figura 1: Fluxograma da produção de cervejas artesanais

As etapas de produção consistem em colocar o amido — em geral de cereais maltados — em água, adicionar lúpulo, ferver para esterilizar, resfriar e fermentar com a levedura, envasar e aguardar o tempo de maturação para ocorrer a carbonatação. No entanto, o amido é uma molécula muito grande e precisa ser quebrada em açúcares menores para que as leveduras consigam consumi-lo. Esta quebra ocorre através do processo de mosturação, onde o amido é dissolvido em água e aquecido gerando os açúcares fermentescíveis maltotriose, maltose e glicose e produzindo um líquido adocicado chamado de mosto. O mosto então será fervido para se tornar estéril e evitar contaminação por alguma bactéria residual; em seguida é adicionado o lúpulo que, através da fervura, liberará amargor, sabor e aroma.

Na etapa de resfriamento, a temperatura do mosto deverá ficar em torno de 20 °C para que possam ser inoculadas as leveduras que irão fermentá-lo, produzindo álcool e gás carbônico sob condições de anaerobiose (ausência de oxigênio). Esta temperatura não pode ser alta para não haver o risco de matar as células destas leveduras. De acordo com Evangelista (2012), o processo de fermentação da cerveja ocorre em duas fases distintas. Em uma delas o microrganismo utilizado é da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que atua de forma rápida na superfície da mistura, não consumindo todo o açúcar contido no malte.

Como citamos, existem muitos açúcares que compõem as cervejas, por exemplo, a Maltotriose ($C_{18}H_{32}O_{16}$), a Maltose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) e a Glicose ($C_6H_{12}O_6$), o que se evidencia no paladar. A glicose corresponde a cerca de 8,9% do mosto; já a maltose, responsável por grande parte do sabor da cerveja, é o carboidrato predominante e corresponde a cerca de 41%. Porém, na grande maioria dos estilos, o amargor proporcionado pelo lúpulo mascara esta sensação de dulçor. Além destes açúcares, são formados também os não fermentescíveis, que não são consumidos pelas leveduras, por serem formados de três moléculas de glicose unidas. Estes são

conhecidos como dextrinas $(C_6H_{10}O_5)_n$ e têm a função de auxiliar na retenção da espuma e dar corpo à cerveja. Outros açúcares podem ser incorporados às cervejas como, por exemplo, a sacarose (frutose+glicose) proveniente de alguma polpa de fruta, rapadura ou açúcar mascavo que foram adicionados à cerveja com o intuito de aumentar sua densidade e deixá-la mais alcoólica ou ainda quando se prepara o *prime* (solução de sacarose e água) para carbonatar a cerveja na garrafa. Para este processo, é necessário quebrar a molécula de sacarose liberando a frutose e a glicose, o que se consegue com a diminuição do pH da solução e seu aquecimento.

O processo de produção de uma cerveja de baixa caloria utiliza enzimas como, por exemplo, Brut GA (Glucoamilase) ou Atenuzyme, que têm a função de quebrar estes açúcares não fermentáveis. Parte destes açúcares são provenientes do amido contido no malte que, após o cozimento, é liberado formando o mosto e a outra é composta pelo açúcar invertido utilizado no *priming*, onde a sacarose é quebrada em glicose e frutose através da diluição em água e aquecimento. Ao final do processo, quem consome de fato todo o açúcar é a levedura. Mesmo as cervejas de baixa caloria não chegam a ter zero carboidrato; no entanto, apresentam significativamente menos calorias. Para que possamos fazer o registro de uma cerveja especificando que ela é Light, é necessário antes fazer análises laboratoriais de pH, sólidos totais, densidade e teor alcoólico que comprovem esta alegação. A norma técnica do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) define como Light as cervejas cujo conteúdo tenha 25% a menos de nutrientes em relação às cervejas comuns da mesma região. Segundo esta NT, o valor energético da cerveja pronta para o consumo deve ser no máximo de 35 Kcal por 100 ml. Por definição, a cerveja é uma bebida tradicionalmente alcoólica, cerca de 5 a 9%, pois a fermentação é um processo biológico que transforma o açúcar em álcool. Para que possamos obter uma cerveja *zero cal* seria necessário que ela fosse 0% de álcool, já que em cada grama de álcool estão contidos 7 Kcal. O processo de fabricação de uma cerveja com baixo teor alcoólico consiste em diminuir o tempo de fermentação, reduzir a quantidade de açúcares presentes no mosto e/ou retirar as moléculas de álcool através de técnicas modernas de físico-química; contudo, as cervejas sem álcool representam menos de 1% do mercado global.

Sobre a classificação de uma cerveja sem álcool podemos afirmar que:

Para ser considerada sem álcool, a cerveja não pode conter mais do que 0,5% de teor alcoólico, e nesse caso não é obrigatório declarar o conteúdo alcoólico no rótulo. A regra vale no Brasil (Decreto nº 2.314, de 4/9/1997, Art. 66, item IIIa) e praticamente em todo o mundo. Uma exceção é o Reino Unido, onde vigora uma classificação mais rigorosa: somente cervejas com teor menor que 0,05% apv podem ser chamadas “sem álcool” (alcohol free); acima desse percentual até o limite de 0,5% apv devem ser chamadas de “desalcooolizadas” (de-alcoholized), e entre 0,5% e 1,2% apv devem ser classificadas como “de baixo teor alcoólico” (MORADO, 2017, p. 186).

2.1 Metodologia

Atualmente existem várias técnicas oficiais baseadas em propriedades físicas e químicas que podem ser empregadas para análises de cervejas. Os açúcares, sejam eles redutores, não redutores ou totais, devido ao fato de possuírem diferentes tipos de dulçor e por serem edulcorantes, são amplamente utilizados nas indústrias alimentícias e o conhecimento de sua composição em cada tipo de alimento ou bebida auxilia diretamente no controle da qualidade, que é imposto e limitado pela legislação. O consumo exagerado destes aditivos alimentares leva a diversos problemas, principalmente a obesidade e a diabetes. No presente trabalho foram escolhidos os métodos de Lane-Eynon para determinação dos açúcares e o método de medição com o refratômetro para determinação da densidade, por se tratar de métodos simples e bastante empregados nas indústrias devido ao seu baixo custo e praticidade.

Os açúcares solúveis fazem parte da grande maioria dos alimentos; sua determinação quantitativa e qualitativa é possível através da redução de cátions, como cobre e prata, devido à sua capacidade de oxido-redução, o que afeta a coloração das soluções que os contém. No entanto, a sacarose não possui esta característica, sendo necessário um tratamento hidrolítico prévio, feito em meio ácido forte ou através da ação de enzimas. A hidrólise da sacarose é de grande importância sob vários pontos de vista, entre os quais podemos destacar o fato de esta fazer parte da dieta dos seres humanos, sendo hidrolisada no intestino delgado onde a molécula glucose é rapidamente conduzida ao fígado por processo ativo. Além disso, os açúcares estão muito presentes nos hábitos alimentares, principalmente de pessoas mais jovens; portanto, faz-se importante que a dosagem seja de grande precisão para garantir a qualidade do produto.

2.1.1 Determinação do pH

Definido como a concentração dos íons de hidrogênio ou de hidroxila (pOH), os valores adimensionais do pH são medidos em caracteres ácido ($0,00 < pH < 7,00$), neutro ($pH = 7,00$) e alcalino ($7,00 < pH < 14,00$). O Phmetro é um aparelho que mede por via potenciométrica este valor, através da *ddp* (diferença de potencial) entre a solução padrão que se encontra dentro do bulbo de vidro do eletrodo e a substância que se deseja examinar. As análises de Ph foram feitas através de aparelho Phmetro digital da marca Akso, modelo AK 90 que foi previamente calibrado (Fig. 2).

2.1.1.1 Materiais e equipamentos

- * pHmetro;
- * Água destilada;
- * Solução padrão pH 4,0;
- * Solução padrão pH 7,0;
- * Béquer de 100 ml

Figura 2: Aparelho pHmetro digital



Fonte: O autor (2022)

2.1.2 Determinação de açúcares totais (AT)

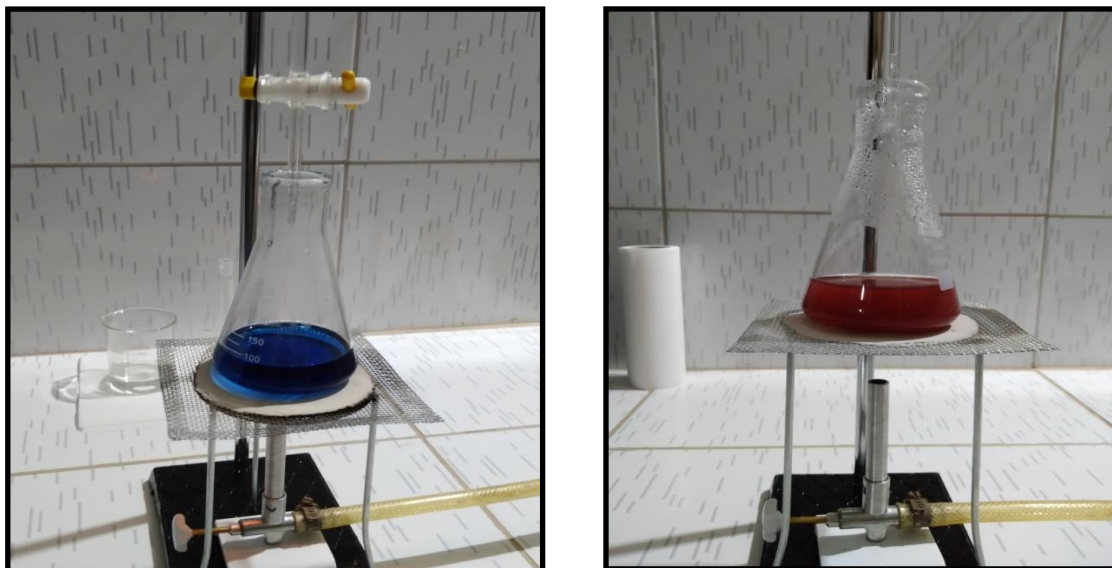
A titulometria Lane-Eynon leva em consideração a estequiometria de uma reação onde uma quantidade de um reagente de concentração conhecida é consumida pela amostra analisada. Este método também é conhecido como Método de Fehling e consiste na redução dos íons cúpricos de uma solução de ácido tartárico com cobre alcalino, que ocorre devido à presença de açúcares redutores. Esta reação forma um precipitado de óxido cuproso. Nesta reação, o tartarato de sódio e potássio forma um sal com Cu^{2+} , de coloração azul-anil, que sofre redução e resulta em óxido cuproso, de coloração avermelhada. O monossacarídeo é oxidado e isto resulta em um sal sódico (TAVARES *et al.*, 2010).

2.1.2.1 Materiais e equipamentos

- * Solução Fehling A e Fehling B;
- * Água destilada;
- * Erlenmeyer de 250 ml;
- * Bico de Bunsen;
- * Pipeta graduada de 10 ml;
- * Bureta graduada de 50 ml.

A solução inicial é azul e, após a titulação, a coloração muda para vermelho-tijolo, conforme as figuras (Fig. 3).

Figura 3: Demonstração do ponto de viragem da titulação



Fonte: O Autor (2022)

2.1.3 Determinação de sólidos solúveis (°Bx)

A refração ocorre com a mudança da direção que um feixe de luz faz ao trocar de meio e é medida em graus para a determinação do ângulo de refração. O refratômetro mede este desvio e retorna um valor de índice de refração, que é comparado a um padrão, previamente calibrado (CALDAS *et al.*, 2015). A unidade utilizada é o grau Brix (°Bx) onde 1 °Bx representa a quantidade de 1 g de compostos solúveis a cada 100 g de solução. Esta medida varia de acordo com a concentração da solução; assim, se obtivermos, por exemplo, uma leitura de 15 °Bx em uma amostra de 100 g de água e sacarose significa dizer que ela tem 15 g de sacarose. A leitura é feita de forma instantânea; basta aplicar uma gota da solução a ser analisada no prisma do aparelho e observar a escala pela lente ocular (Fig. 4).

2.1.3.1 Materiais e equipamentos

- * Refratômetro
- * Água destilada
- * Conta gotas

Figura 4: Aparelho refratômetro de escala dupla (SG/Brix)



Fonte: Disponível em: https://produto.mercadolivre.com.br/MLB-1217970695-refratmetro-cerveja-artesanal-brix-og-_JM

Foram utilizadas três gotas do líquido no prisma do equipamento para a leitura da medida.

2.1.4 Determinação da densidade relativa

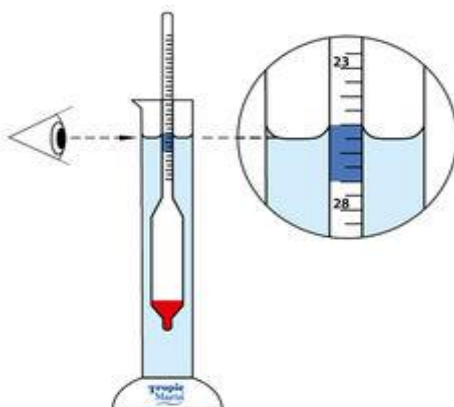
Conforme Palmer (2006), um densímetro mede a relação entre a densidade da água pura e a água com açúcar dissolvido, de acordo com o quanto ele flutua na solução (Fig. 5).

2.1.4.1 Materiais e equipamentos

- * Densímetro;
- * Proveta de 250 ml;

Colocou-se 200 ml do líquido na proveta e mergulhou-se o aparelho que ficou flutuando até a sua estabilização; logo observou-se o valor indicado na sua escala.

Figura 5: Demonstração da leitura do densímetro



Fonte: Disponível em <https://www.robinhobeer.com.br>

2.1.5 Determinação do teor alcoólico

A diferença entre os valores de OG e os valores de FG corresponde à quantidade do açúcar consumido na fermentação e, conseqüentemente, determina o teor alcoólico produzido (MORADO, 2017, p. 208).

2.1.5.1 Materiais e equipamentos

- * Tabelas de conversão (Tabela 1 e Tabela 2);
- * Refratômetro;

Tabela 1: Correção da densidade de acordo com a temperatura.

| Temp °C | Correção | Temp °C | Correção | Temp °C | Correção |
|---------|----------|---------|----------|---------|----------|
| 1 | (1,7) | 30 | 2,5 | 59 | 14,3 |
| 2 | (1,7) | 31 | 2,8 | 60 | 14,8 |
| 3 | (1,8) | 32 | 3,1 | 61 | 15,3 |
| 4 | (1,8) | 33 | 3,4 | 62 | 15,8 |
| 5 | (1,8) | 34 | 3,7 | 63 | 16,4 |
| 6 | (1,7) | 35 | 4,1 | 64 | 16,9 |
| 7 | (1,7) | 36 | 4,4 | 65 | 17,5 |
| 8 | (1,6) | 37 | 4,8 | 66 | 18,0 |
| 9 | (1,6) | 38 | 5,1 | 67 | 18,6 |
| 10 | (1,5) | 39 | 5,5 | 68 | 19,1 |
| 11 | (1,4) | 40 | 5,9 | 69 | 19,7 |
| 12 | (1,3) | 41 | 6,2 | 70 | 20,3 |
| 13 | (1,2) | 42 | 6,6 | 71 | 20,8 |
| 14 | (1,1) | 43 | 7,0 | 72 | 21,4 |
| 15 | (0,9) | 44 | 7,4 | 73 | 22,0 |
| 16 | (0,8) | 45 | 7,8 | 74 | 22,6 |
| 17 | (0,6) | 46 | 8,3 | 75 | 23,2 |
| 18 | (0,4) | 47 | 8,7 | 76 | 23,8 |
| 19 | (0,2) | 48 | 9,1 | 77 | 24,4 |
| 20 | (0,0) | 49 | 9,5 | 78 | 25,0 |
| 21 | 0,2 | 50 | 10,0 | 79 | 25,7 |
| 22 | 0,4 | 51 | 10,4 | 80 | 26,3 |
| 23 | 0,6 | 52 | 10,9 | 81 | 26,9 |
| 24 | 0,9 | 53 | 11,4 | 82 | 27,6 |
| 25 | 1,1 | 54 | 11,8 | 83 | 28,2 |
| 26 | 1,4 | 55 | 12,3 | 84 | 28,9 |
| 27 | 1,6 | 56 | 12,8 | 85 | 29,5 |
| 28 | 1,9 | 57 | 13,3 | 86 | 30,2 |
| 29 | 2,2 | 58 | 13,8 | 87 | 30,9 |

Fonte: Disponível em <https://www.homnilupulo.com.br/calcular-alcool-cerveja/>

Tabela 2: Percentual de álcool por volume

| Tabela 2 - Percentual de álcool por volume (ABV) pela densidade Original e densidade Final. | | | | | | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| x | 1.030 | 1.035 | 1.040 | 1.045 | 1.050 | 1.055 | 1.060 | 1.065 | 1.070 | 1.075 |
| 0.998 | 4.1 | 4.8 | 5.4 | 6.1 | 6.8 | 7.4 | 8.1 | 8.7 | 9.4 | 10.1 |
| 1.000 | 3.9 | 4.5 | 5.2 | 5.8 | 6.5 | 7.1 | 7.8 | 8.5 | 9.1 | 9.8 |
| 1.002 | 3.6 | 4.2 | 4.9 | 5.6 | 6.2 | 6.9 | 7.5 | 8.2 | 8.9 | 9.5 |
| 1.004 | 3.3 | 4.0 | 4.6 | 5.3 | 5.9 | 6.6 | 7.3 | 7.9 | 8.6 | 9.3 |
| 1.006 | 3.1 | 3.7 | 4.4 | 5.0 | 5.7 | 6.3 | 7.0 | 7.7 | 8.3 | 9.0 |
| 1.008 | 2.8 | 3.5 | 4.1 | 4.8 | 5.4 | 6.1 | 6.7 | 7.4 | 8.0 | 8.7 |
| 1.010 | 2.6 | 3.2 | 3.8 | 4.5 | 5.1 | 5.8 | 6.5 | 7.1 | 7.8 | 8.4 |
| 1.012 | 2.3 | 2.9 | 3.6 | 4.2 | 4.9 | 5.5 | 6.2 | 6.8 | 7.5 | 8.2 |
| 1.014 | 2.0 | 2.7 | 3.3 | 4.0 | 4.6 | 5.3 | 5.9 | 6.6 | 7.2 | 7.9 |
| 1.016 | 1.8 | 2.4 | 3.1 | 3.7 | 4.4 | 5.0 | 5.7 | 6.3 | 7.0 | 7.6 |
| 1.018 | 1.5 | 2.2 | 2.8 | 3.4 | 4.1 | 4.7 | 5.4 | 6.0 | 6.7 | 7.3 |
| 1.020 | 1.3 | 1.9 | 2.5 | 3.2 | 3.8 | 4.5 | 5.1 | 5.8 | 6.4 | 7.1 |
| 1.022 | 1.0 | 1.6 | 2.3 | 2.9 | 3.6 | 4.2 | 4.9 | 5.5 | 6.2 | 6.8 |
| 1.024 | 0.8 | 1.4 | 2.0 | 2.7 | 3.3 | 4.0 | 4.6 | 5.2 | 5.9 | 6.5 |

Fonte: Disponível em <https://www.homnilupulo.com.br/calculador-alcool-cerveja/>

O cálculo da porcentagem alcoólica é feito utilizando as tabelas 1, de correção da densidade de acordo com a temperatura; e a tabela 2, de percentual de álcool por volume (ABV) pela densidade original (OG) e densidade final (FG).

2.2 Procedimentos

Para este experimento foi escolhida a produção de uma cerveja artesanal tipo *Lager* onde foram utilizados os maltes *lager* e trigo claro, lúpulo *Hersbrucker* e levedura. Foram produzidas duas bateladas de 10 litros cada, e foi adicionada a enzima *Brut Glucoamilase em apenas uma delas*. As cervejas foram denominadas para fins deste experimento como “cerveja A” — a que continha a enzima GLA — e “cerveja B” — a que foi produzida sem o uso deste aditivo. Na composição de cada bebida foram utilizados 1,5 kg de malte *lager* e 0,5 kg de malte trigo claro, que foram cozidos a 65 °C por uma hora em 5 litros de água mineral. Ao final do cozimento, fez-se a lavagem (*sparge*) do bagaço do malte com 7 litros de água previamente fervida e resfriada a 60 °C. Em seguida, realizou-se a etapa de fervura para esterilização do mosto por 1h20m e adicionou-se 10 g de lúpulo no início da fervura para conferência de

sabor/amargor e 5 g de lúpulo nos últimos 5 minutos da fervura para conferência de aroma. Depois das perdas por evaporação, obteve-se a quantidade de 10 litros de mosto.

Após o resfriamento para temperatura de 20 °C, inoculou-se 7 g da levedura e acondicionou-se em balde fermentador, onde se manteve a temperatura de 12 °C por 12 dias. Na “cerveja A”, na qual foi adicionada a enzima, esta foi inoculada no terceiro dia da fermentação. Ao final desta etapa, preparou-se o *priming* (solução de açúcar cristal e água) na proporção de 7 g de açúcar para cada litro de cerveja e colocou-se 07 ml desta solução em cada garrafa de 600 ml; ali foi engarrafado e tampado para evitar-se a entrada de oxigênio. Em seguida, esperou-se um tempo de maturação de 15 dias, a temperatura de 2 °C, para que ocorresse a carbonatação das cervejas e finalizasse o seu ciclo de produção.

Ao final do processo de produção das cervejas, iniciaram-se as análises propriamente ditas. O primeiro parâmetro analisado foi o pH. Foram colhidas amostras de 50 ml de cada produto, agitadas em béquer de 250 ml para descarbonatação e feita a medição com aparelho Phmetro digital, previamente calibrado com soluções padrão de pH 4.0 e 7.0 (Fig. 6).

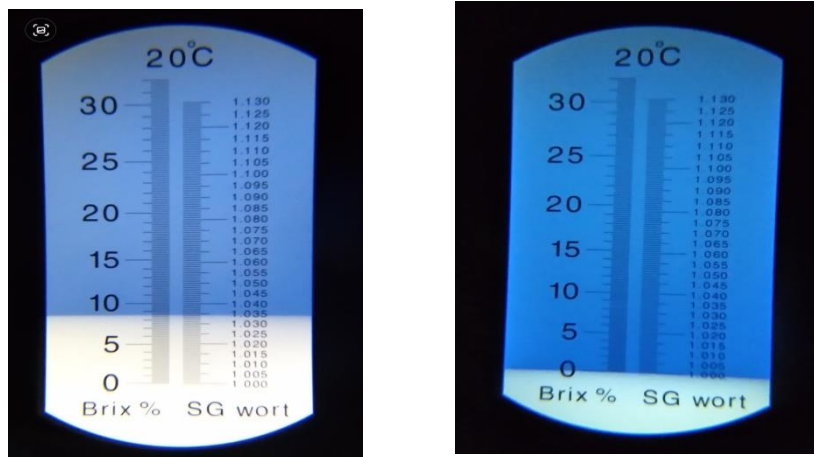
Figura 6: Medição do pH



Fonte: O Autor (2022)

Os sólidos solúveis foram medidos com o líquido a aproximadamente 20 °C através de aparelho refratômetro com escala dupla SG e °Brix (Fig. 7), antes da fermentação (OG) e após a fermentação (FG).

Figura 7: Visualização da escala do refratômetro



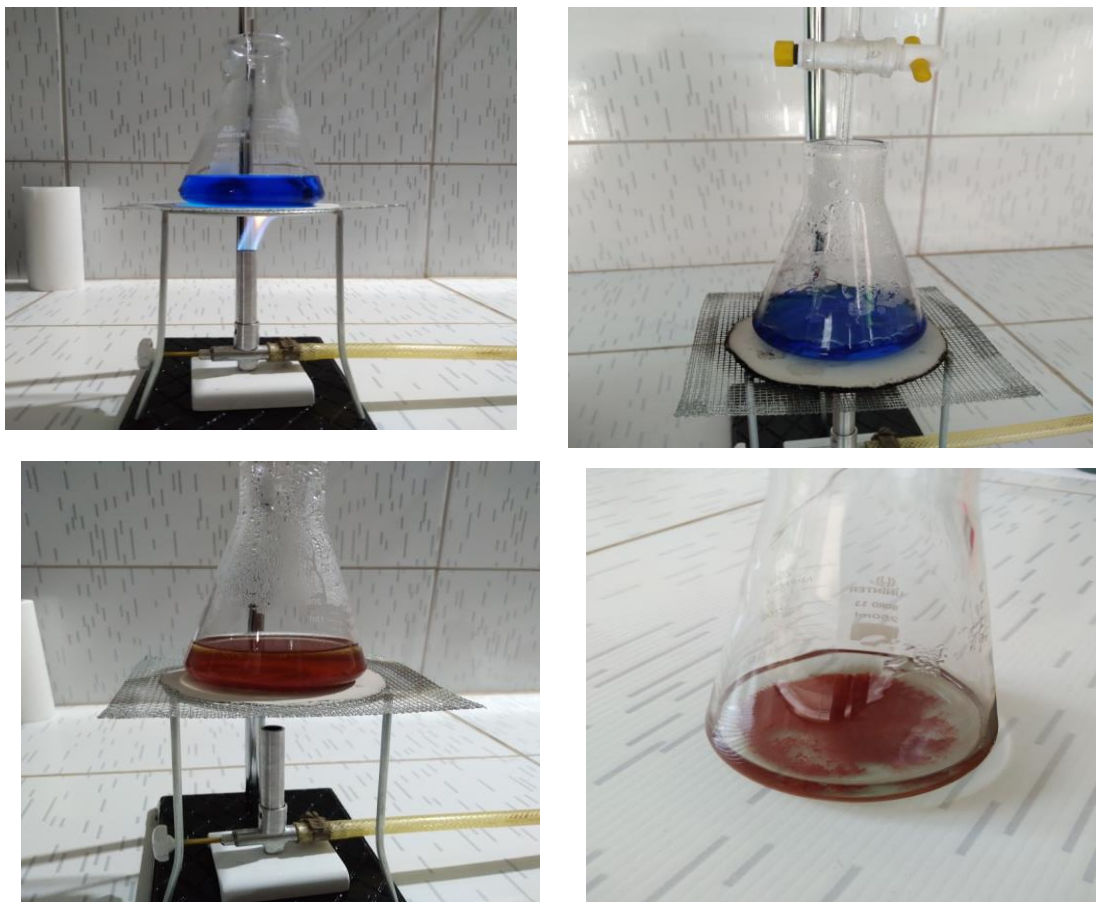
Fonte: O Autor (2022)

O teor alcoólico foi quantificado com o uso das tabelas de referência; os resultados obtiveram-se pela interseção entre a coluna da OG com a linha da FG e confirmaram-se através do cálculo com a equação 01 proposta no livro *The Complete Joy of Homebrewing* (2014), de Charlie Papazian.

$$\% \text{ ABV} = 131,25 \times (\text{OG} - \text{FG}) \text{ (Equação 01)}$$

A análise de teor de açúcar total foi realizada através do método Lane-Eynon. Cada amostra foi descarbonatada em béquer de 100 ml através de agitação com bastão de vidro, colocada em quantidade de 50 ml na bureta para proceder à titulação com os reagentes de Fehling. Adicionou-se em erlenmeyer 5 ml da solução de Fehling A e 5 ml da solução de Fehling B, que foram diluídas com 40 ml de água destilada; em seguida foi levada para aquecimento até a fervura. Iniciada a ebulição, verteu-se o conteúdo da bureta e fez-se a titulação até que desaparecesse totalmente a coloração azul dos reagentes; este é o ponto de viragem, com o surgimento da coloração vermelho-tijolo e restando um resíduo avermelhado no fundo do recipiente conforme metodologia de Adolf Lutz (ZENEBAON, PASCUET, TIGLEA, 2008), ilustrada na figura 8.

Figura 8: Demonstração da titulação



Fonte: O Autor (2022)

A Tabela 3 apresenta os valores encontrados durante a determinação titulométrica do teor de açúcar nas amostras de cerveja produzidas.

Tabela 3: Valores da titulação

| Cerveja A | Cerveja B |
|------------------|------------------|
| A= 50 ml | A= 50 ml |
| a= 0,056 | a= 0,056 |
| P= 49,0 g | P= 49,02 g |
| V= 12,6 ml | V= 8,8 ml |

Os dados obtidos foram substituídos na equação 02, proposta por Adolf Lutz (ZENEON, PASCUET, TIGLEA, 2008), para cálculo de teor de açúcar total.

$$AT = \frac{100 \times A \times a}{P \times V} \text{ (Equação 02)}$$

Onde,

AT = Açúcar total % m/m

A = n° de ml da amostra

a = n° de g de glicose correspondente a 10 ml de Fehling A e B

P = massa da amostra (g)

V = volume escoado da bureta (ml)

De acordo com a metodologia descrita, os valores médios das triplicatas das análises físico-químicas encontram-se na tabela 4.

Tabela 4: Resultados das análises

Determinações Mosto Cerveja A Cerveja B

pH 5.8 4.4 4.3

Teor alcoólico (ABV) - 3,5% 3,1%

Sólidos solúveis (°Brix) 9.0 2.8 3.0

Açúcar total (%m/m) - 0,45% 0,65%

Densidade relativa (g/cm³) 10.38 10.11 10.15

Fonte: O Autor (2022)

3 Resultados e discussões

De acordo com os resultados das análises, verifica-se a atuação da enzima glucoamilase na quebra dos açúcares residuais não fermentáveis do mosto, o que proporcionou um maior teor alcoólico (ABV 3,5%) na cerveja produzida com este insumo. A maioria das cervejas artesanais possuem ABV entre 2% e 7%, isto é, cada 300 ml da bebida contém de 6 a 21 ml de álcool.

Sobre a densidade relativa, os resultados foram intrínsecos, obtendo-se uma OF menor na cerveja A (OF 10.11) e maior na cerveja B (OF 10.15), devido ao fato de as leveduras consumirem mais açúcares e, conseqüentemente, diminuírem a densidade do líquido que as continha. Os valores foram comparados com os padrões definidos pela ANVISA no decreto n° 2.314/1997 (BRASIL, 1977) e estão dentro das faixas estabelecidas para densidade relativa e teor alcoólico.

Por se tratar de cervejas puro malte, os resultados para os valores de sólidos solúveis ficaram dentro dos limites. No mosto, onde o açúcar é concentrado, o teor por 100 g de amostra ficou em 9,00 g e nas cervejas os resultados tiveram pequena diferença, sendo 2,8 g na cerveja A e 3,0 g na cerveja B. Os efeitos da enzima e possíveis diferenças na hora do preparo das bebidas podem explicar a diferença de dulçor entre as amostras, o que ficou comprovado na análise do açúcar total (AT).

Para as análises de pH, as amostras apresentaram valores inferiores a 4,5 (4.4 na cerveja A e 4.3 na cerveja B), o que é de grande importância para manter a bebida livre de micro-organismos patogênicos, evitando também posteriores contaminações, sobretudo pelo *Clostridium botulinum*, causador do botulismo (HOFFMANN, 2001).

4 Considerações finais

Produzir a própria cerveja caseira (*homebrew*) é cada dia mais fácil, seja pela facilidade em adquirir as matérias primas — que são vendidas em pequenas quantidades por lojas especializadas — ou pela simplicidade das receitas que utilizam kits prontos para fabricação. A busca de consumidores que preferem um produto com características diferenciadas tem fomentado o grande surgimento de microcervejarias nos últimos anos e promovido a difusão desta ideia. Além disso, ao se produzir a própria bebida, temos a garantia de um produto sem aditivos e conservantes, que são utilizados em grandes linhas de produção. Sendo assim, o conhecimento em análises físico-químicas deste tipo de bebida é de suma importância para que se possa garantir a qualidade destes produtos e que estejam dentro das especificações dos órgãos fiscalizadores.

Os resultados obtidos neste experimento revelaram que as cervejas produzidas com e sem a adição da enzima glucoamilase estão em conformidade com as referências citadas e que a presença deste insumo reduz de fato os níveis de açúcar presentes, sem alterar suas características finais. Contudo, o preço de uma cerveja artesanal chega a ser de duas a três vezes maior do que uma industrializada, devido à grande carga tributária incidente. Desta maneira, para estudos futuros, indica-se a análise da viabilidade econômica do uso deste coadjuvante tecnológico em produções de média escala, bem como uma pesquisa do mercado consumidor para este tipo de cerveja.

Referências

APCV. **Associação Portuguesa dos Produtores de Cerveja**. 2012.

BELTRAMELLI, Mauricio. **Cervejas, brejas e birras**. 2. ed. São Paulo: Leya, 2014.

CASCUDO, Luís da Câmara. **Prelúdio da cachaça**. São Paulo: Global, 1962.

BRASIL. Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília-DF: Presidência da República, 1997.

BRASIL. Instrução normativa nº 65, de 10 de dezembro de 2019. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ed. 239, p. 31, 11 dez. 2019.

CALDAS, B. S. *et al.* Determinação de açúcares em suco concentrado e néctar de uva: comparativo empregando refratometria, espectrofotometria e cromatografia líquida. **Scientia Chromatographica**, São Carlos – SP, v. 7, n. 1, p. 53-63, 2015.

EVANGELISTA, R. R. Análise do processo de fabricação industrial de cerveja. 2012. 50 f. TCC (Graduação em Tecnologia em Biocombustíveis) – Fatec de Araçatuba, Araçatuba – SP, 2012.

HOFFMANN, F. L. Higiene: Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 9, jul./ago. 2001.

JANSSENS *et al.* Overweight and obesity in Canadian adolescents and their associations with dietary habits and physical activity patterns. **Journal of Adolescent Health**, [s. l.], v. 35, n. 5, p. 360-367, nov. 2004.

MAFRA, G P. Análise físico-química de cerveja American Lager maturada com pimenta rosa (aroeira). 2018. 42 f. TCC (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

MORADO, Ronaldo. **Larousse da cerveja**: A história e as curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo. 1. ed. São Paulo: Alaúde, 2017.

MORETTO *et al.* Introdução à ciência de alimentos. 2. ed. ampl. rev. Florianópolis: Ed. UFSC, 2008.

O MAPA da cerveja no Brasil. **Beer art**, [s. l.], 15 nov. 2021. Disponível em: <https://revistabeerart.com/news/cervejarias-brasil>. Acesso em: 14 jul. 2021.

PALMER, J. J. **How to brew**: everything you need to know to brew beer right the first time. 3. ed. [S. l.]: Brewers Publications, 2006.

PINTO, M. C. F. (org.). **Medição in loco**: temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido. Belo Horizonte: CPRM - Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais. Serviço Geológico do Brasil, 2007.

SANTOS, Sergio de Paula. **Os primórdios da cerveja no Brasil**. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003.

SILVA, R. N. *et al.* Comparação de métodos para determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 337-341, dez. 2003.

TAVARES, J. T. de Q. *et al.* Interferência do ácido ascórbico na determinação de açúcares redutores pelo Método de Lane e Eynon. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 805-809, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/dNKDBb4SSZyrscyvcMwtJpJ/?lang=pt>. Acesso em: 05 jul. 2021.

ZENEBON, Odair; PASCUET, Neus Sadocco; TIGLEA, Paulo (coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.