

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS  
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LUIS GUILHERME RODRIGUES DE SOUZA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS A ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NA ETAPA DE  
MOSTURAÇÃO DO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE CERVEJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2019

LUIS GUILHERME RODRIGUES DE SOUZA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS A ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NA ETAPA DE  
MOSTURAÇÃO DO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE CERVEJA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Henrique Poliseli Scopel

CAMPO MOURÃO

2019



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Campo Mourão



Departamento Acadêmico de Alimentos  
Curso de Engenharia de Alimentos

---

---

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS A ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NA ETAPA DE  
MOSTURAÇÃO DO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE CERVEJA**

por

**LUIS GUILHERME RODRIGUES DE SOUZA JUNIOR**

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 11 de fevereiro de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Fábio Henrique Polisel Scopel  
Orientador

---

Prof. Dr. Raphael Menechini Neto  
Membro externo

---

Prof. Dra. Stéphanie Caroline Beneti  
Membro

---

**Nota:** O documento original assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Etapas do processo de fabricação de cerveja .....	<b>6</b>
Figura 2: Equipamento de Alta pressão hidrostática .....	<b>12</b>
Figura 3: Filtragem .....	<b>12</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Pressões e tempos aplicados.....	11
Tabela 2: Análises Físico-Químicas dos mostos pressurizados.....	15
Tabela 3: Análise de Açúcares redutores (AR) das amostras.....	17
Tabela 4: Proteínas (porcentagem) e desvio padrão .....	18

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Faixa de trabalho de pH para as enzimas .....	<b>8</b>
---	----------

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Açúcares redutores, comparação entre os testes 1 e 2 ..... **8**

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
2.1 Objetivo Geral .....	3
2.2 Objetivo Específico .....	3
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
3.1 História da Cerveja .....	4
3.2 Produção de Cerveja .....	5
3.2.1 Malteação .....	6
3.2.2 Mosturação .....	7
3.2.1 Fermentação .....	8
3.2.1 Maturação .....	8
3.2.1 Acondicionamento .....	9
3.3 Enzimas e a Alta Pressão .....	9
3.4 Cervejas fabricadas a Alta Pressão .....	10
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>11</b>
4.1 Regulagem do pH da água .....	11
4.2 Moagem do malte de cevada .....	11
4.3 Mosturação .....	11
4.4 Filtração .....	12
4.5 Análise de Açúcares Redutores .....	13
4.6 Análise de Sólidos Solúveis .....	13
4.7 Análise de pH .....	13
4.8 Análise da Turbidez .....	13
4.9 Análise de Proteínas Totais .....	13



<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>15</b>
5.1 Análises Físico-Químicas .....	15
5.1.1 pH.....	15
5.1.2 °Brix.....	16
5.1.1 Turbidez .....	16
5.2 Açúcares Redutores (AR) .....	16
5.3 Determinação de Proteína .....	18
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>20</b>

## RESUMO

SOUZA JR, L. G. R. de. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS A ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA NA ETAPA DE MOSTURAÇÃO DO PROCESSO DE ELABORAÇÃO DE CERVEJA**. 38 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em engenharia de alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2019.

Novas tecnologias não térmicas vêm sendo utilizadas nos processos produtivos tanto para ganho financeiro quanto para ganho na qualidade dos produtos. A alta pressão hidrostática é uma das tecnologias não térmicas que nos últimos anos passou a ser testada nos processos de fabricação de cerveja, já que ela atua na inativação de microrganismos, bem como na ativação/inativação de enzimas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência da alta pressão para ativar enzimas que desenvolvem papéis importantes na produção de uma cerveja. Foram analisados o pH, °brix, turbidez, além de açúcares redutores e proteínas para três amostras (em dois testes) que passaram por tratamentos diferentes de tempo à pressão de 200 bar (20 min, 40 min e 60 min). Os resultados dos tempos à 200 bar, 20 min a 60 min, indicaram valores de pH de 5,6 a 5,8, °brix de 2,75 à 5,1, e açúcares redutores de 2,95 à 5,7 %; enquanto que a turbidez não teve resultados satisfatório. Os resultados mostram uma deficiência na quebra de proteínas, possivelmente relacionada ao pH de trabalho das enzimas para tal fim.

**Palavras-chave:** Cerveja; Mosturação; Alta pressão hidrostática; Ativação de enzima; pH; Proteínas.

## ABSTRACT

SOUZA JR, L. G. R. de. **EVALUATION OF HIGH HYDROSTATIC PRESSURE EFFECTS IN THE WORT BOILING STAGE OF THE BEER PROCESSING**. 38 p. completion of course work (Bachelor of food engineering), Technological University Federal of Parana. Campo Mourao, 2019.

Non-thermal technologies have been used in production processes to achieve both financial and product quality gains. Hydrostatic high pressure is one of the non-thermal technologies that in recent years passed to be tested in the brewing processes, since it acts in the inactivation of microorganisms and activation/inactivation of enzymes. The objective of this work was to investigate the efficiency of high pressure to activate enzymes that play important role in the beer production. The pH, °brix, turbidity, as well as reducing sugars and proteins were analyzed for three samples (in two tests) which suffered different treatments by combining pressure of 200 bar and at 20 min, 40 min and 60 min. The results of 20 min and 60 min, indicated pH values of 5.6 and 5.8, °brix of 2.75 and 5.1, and reducing sugars of 2.95% and 5.7%; while the turbidity did not have satisfactory results. The results showed a deficiency to get high protein production at significant values, possibly related to the working pH of the enzymes for this purpose.

**Keywords:** Beer; Wort; High hydrostatic pressure; enzyme activation; pH; proteins.

## 1. INTRODUÇÃO

Alimentos processados envolvem transformações físico-químicas e biológicas, que dão novas características ao alimento ou produto alimentício. O principal efeito desejado no alimento processado é estender a vida útil ao inativar microrganismos. Entretanto, as tecnologias comumente empregadas no processo podem alterar os aspectos nutricionais, sensoriais, inativar enzimas e desnaturar proteínas (VEJA-MERCADO et al., 1997).

Em sua maioria, os métodos tradicionais, exigem grandes quantidades de energia térmica, a partir da eletricidade ou da queima de gás natural, queima de óleo, ou carvão mineral para gerar o calor, provocando alto custo às indústrias. Nesse contexto, tendo em vista o consumo elevado de energia térmica e os efeitos sobre o produto alimentício, novas tecnologias estão sendo estudadas como alternativas no processamento de alimentos, promovendo a segurança microbiológica, qualidade nutricional e sensorial dos alimentos (GASPARETTI, 2014).

A tecnologia de alta pressão hidrostática (APH) é considerada um método novo para conservação de alimentos. Recentemente, tem sido estudada e aplicada por algumas indústrias alimentícias, pois apresenta vantagem de produzir alimentos com vida de prateleira estendida e com qualidade nutricional e sensorial preservadas (CHEAH; LEDWARD, 1996).

O processo de pressurização a alta pressão é realizado em espaços confinados com o emprego de fluido, que atua como meio de transferência de pressão. Segundo a Lei de Pascal da estática de fluidos, a transmissão de pressão ocorre em todas as direções e em igual intensidade. Devido a isso, o alimento e a embalagem que o contém, mantém a mesma estrutura física prévia ao confinamento. A APH segue o princípio de Le Chatelier, de modo que as reações químicas, alterações moleculares e mudanças de fase, são auxiliadas pela diminuição de volume, o qual ocorre em altas pressões (RAHMAN, 1998).

No processo de APH ocorre também uma variação de temperatura durante a compressão, chamada de calor adiabático, e o aquecimento gira em torno de 3 a 6 °C para cada 100 MPa de pressão aplicada (NORONHA et al., 2009). A exposição a alta pressão pode inativar microrganismos, ativar e inativar enzimas de acordo com o princípio de Le Chatelier, além de não favorecer a reação de Maillard e

escurecimento enzimático (BÖHM e JAENICKÉ, 1998). Estudos também indicaram que vitaminas e compostos responsáveis pelo sabor e aroma são preservados (TELLÉZ LUIS et al., 2001).

Os efeitos da pressão sobre as enzimas estão ligados à interação do substrato-enzima. A ação da enzima está associada a composição e estrutura molecular do substrato, implicando sobre os efeitos que esta pode causar no alimento. Quando as enzimas são submetidas a alta pressão, o pH, a concentração do substrato e a estrutura da mesma podem sofrer modificação (NORONHA et al., 2009).

Quando a alta pressão é aplicada nas enzimas, ela consegue alterar as interações intramoleculares rompendo as pontes de hidrogênio, levando a desnaturação da cadeia de peptídeos que formam uma enzima. Consequentemente essas mudanças provocam tanto a ativação como a inativação das enzimas (CARVALHO, 2007)

Na indústria de alimentos a cerveja é um dos produtos que apresenta uma relação importantíssima com as ativações e inativações das enzimas. O processo de ativação e inativação das enzimas da cerveja ocorre na etapa conhecida como mosturação. A mosturação é o processo responsável pela transformação das matérias-primas cervejeiras em mosto, e o principal objetivo é a formação de extratos e nutrientes através da ação enzimática.

As principais enzimas que atuam na produção de cerveja são as proteases, amilases e glucanases. As proteases atuam na digestão das proteínas que servirão de nutrientes para as leveduras na fermentação, e darão a cerveja a consistência da espuma. As amilases são responsáveis pela hidrólise do amido, e definem a proporção de açúcares fermentescíveis e não fermentescíveis. E a viscosidade da cerveja é proveniente da degradação dos beta-glucanos realizada pelas enzimas glucanases (BANDINELLI, 2015).

Levando em consideração as possíveis ações APH, este trabalho realizou testes na etapa de mosturação da cerveja para verificar se o mosto cervejeiro obtido tem as características necessárias para as etapas subsequentes da produção de cerveja, como a fermentação. Assim, partindo dos resultados, verificar se a alta pressão hidrostática tem aplicabilidade para substituir o método tradicional, que utiliza uma quantidade calor/energia por um longo tempo.

## **2. OBJETIVOS**

### 2.1 Objetivo Geral

O foco deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes condições de alta pressão hidrostática na etapa da mosturação do processamento da cerveja.

### 2.2 Objetivo Específico

A partir do mosto produzido com a alta pressão, avaliou-se as características qualitativas e ou quantitativas, tais como açúcares redutores totais; brix (sólidos totais); pH; proteínas totais e turbidez.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 História da Cerveja

É previsto que o emprego de bebidas fermentadas deu início há 30 mil anos, e sua produtividade despertou cerca de 8000 a.C. Esta bebida foi elaborada associadamente aos métodos de fermentação de cereais, e, na Idade Média, o lúpulo foi manuseado pela primeira vez na cerveja por cervejeiros germânicos, concedendo as particularidades da bebida contemporânea (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011).

A cerveja é efetivamente internacional, fabricada e distribuída como a bebida alcoólica mais consumida no mundo, tomando o terceiro lugar depois da água e do chá. Ela veio ao Brasil possivelmente no século XVII com a colonização holandesa, pela Companhia das Índias Ocidentais. Porém, com a saída dos holandeses em 1654, a cerveja se distanciou do país por um século e meio, ressurgindo no final do século XVIII e se tornando verdadeiramente global em seu estilo europeu (SANTOS, 2004).

A cerveja, particularmente, é derivada de grãos de cereais, os quais foram parcialmente maltados - por meio de hidrólise de extratos, provenientes de amidos cereais – uma técnica que gera a liberação de açúcares fermentáveis a partir de amido. Desse modo, em seu significado mais amplo, as bebidas eram preparadas a começar de uma infusão de grãos sujeitos a germinação e a fermentação subsequente da solução açucarada (mosto), em seguida, as leveduras realizam a conversão da solução de açúcar em características sensoriais, etanol e dióxido de carbono (HORNSEY, 2016).

Hipoteticamente, qualquer grão pode ser utilizado, contanto que a semente possua aceitável reserva de polissacarídeo alimentar (endosperma). E ainda, esquentando a mistura de grãos e água, geraria uma grande melhoria na digestibilidade e estado nutricional, decorrente de modificações estruturais em moléculas de amido e proteína. Processos como este revelaram a base para indústrias de malte, cerveja e panificação (HORNSEY, 2016).

Inovações também cooperaram para a evolução da cerveja na história. O vapor foi uma grandiosa descoberta, ofertando a possibilidade de produção em larga escala para as indústrias. Além de que, o descobrimento de células de levedura foi um marco para a ciência, e também um grande evento para esta indústria. Cervejarias introduziram espécies puras de levedura, assegurando um melhor sabor, consistência e qualidade das cervejas (LI; WANG; LIU, 2017).

### 3.2 Produção de Cerveja

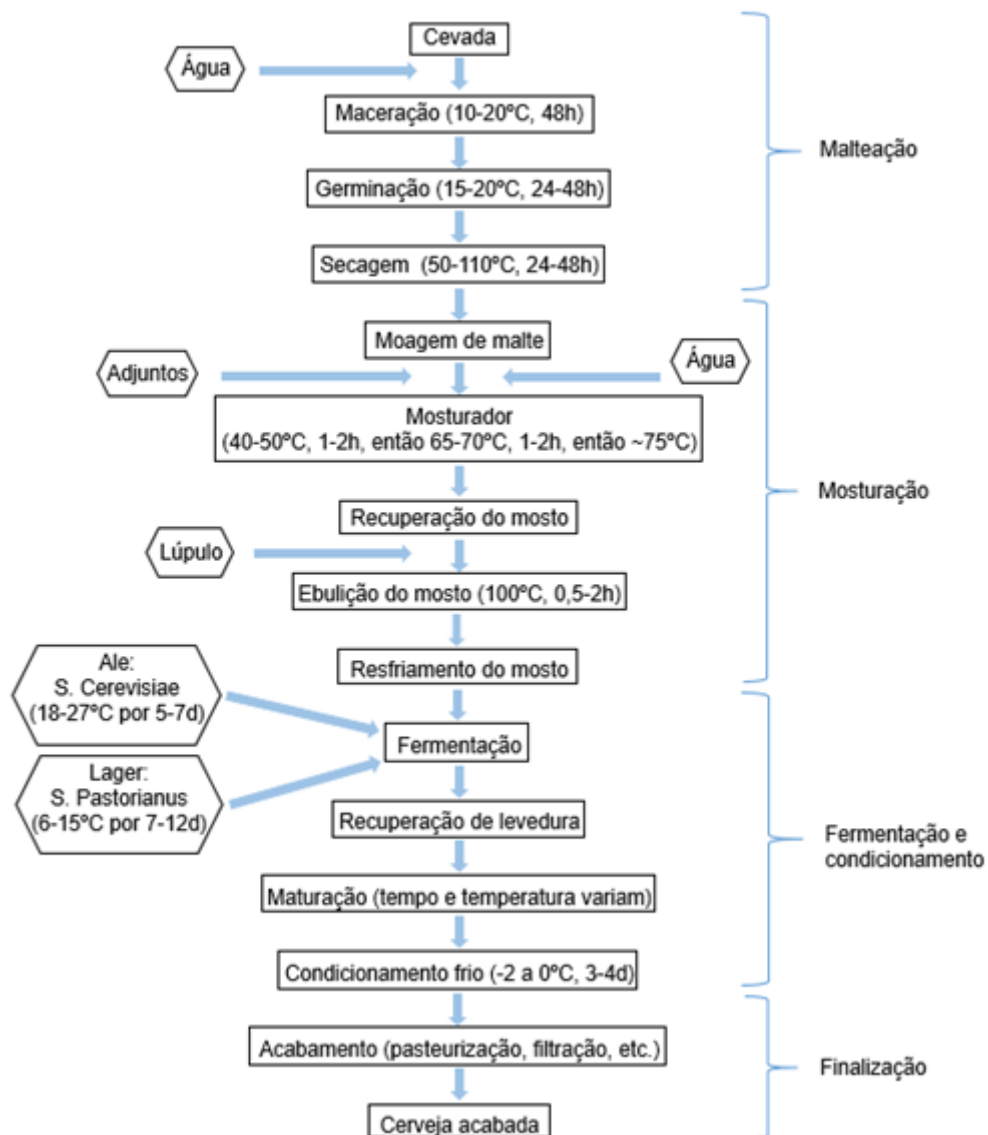
Os ingredientes envolvidos na fabricação da cerveja são:

- Água: Constituinte fundamental, deve ser uma água potável, com concentrações adequadas de cálcio e magnésio, a fim de fornecer nutriente para as leveduras fermentativas.
- Malte de cevada: O malte é obtido através da maceração da cevada, que busca através da adição de água e temperaturas adequadas germinar o grão, que por sua vez, irá gerar mais enzimas para hidrolisar o amido presente no grão. Por fim, a germinação é parada com a inserção de ar seco e calor.
- Lúpulo: É uma flor feminina da família das canabáceas que é desidratada e tem característica amarga.
- Açúcares: São carboidratos que até certo ponto podem ser adicionados na produção de cerveja.
- Levedura cervejeira: São microrganismos eucariotas e pertencente ao reino Fungi, Possui a capacidade de metabolizar constituintes do mosto.
- Aditivos: Corante caramelo, estabilizante de espuma, estabilizante coloidal (como papaína) e antioxidante (como ácido ascórbico e eritórbito).
- Coadjuvantes tecnológicos: Flocculador de proteína e terra filtrante, para retirar impurezas que podem turvar a cerveja (REBELLO, 2009).



Visto isso, seu processo é apresentado na Figura 1.

Figura 1: Etapas do processo de fabricação de cerveja.



Fonte: Elaborada pelo autor com base em (HARRISON, ALBANESE, 2009).

### 3.2.1 Malteação

O procedimento de malteação é composto por três estágios: maceração, germinação e secagem. Na etapa de maceração, a cevada é inserida em reservatórios para ser adicionada água a cevada e assim armazenar os grãos. A germinação acontece ao longo do armazenamento dos grãos de cevada e com o

controle da temperatura entre 10 e 20 °C. O processo de germinação se encerra após dois dias ao alcançar 42-48 % de umidade e por fim, é realizada a secagem dos grãos com ar seco e calor sobre. O processo de malteação tem por finalidade obter uma maior quantidade e disponibilidade de enzimas que estão nos grãos (ESKIN, SHAHIDI, 2015).

### 3.2.2 Mosturação

Na mosturação ocorre a extração e hidrólise de componentes do malte e solubilização dos carboidratos (açúcares do malte). O mosto proveniente da mosturação irá conter proteínas, sais minerais e carboidratos, que são disponibilizados a partir de ações enzimáticas.

- Proteínas: Nutrem as leveduras na tapa de fermentação da cerveja e ajudam a estabilizar formando a espuma e turbidez (Teles, 2007).
- Carboidratos: Os carboidratos provenientes do malte irão dar energia para as leveduras na fermentação, no qual a primeira etapa realizada fica responsável por dar as características sensoriais da cerveja; na etapa seguinte ocorre a formação do álcool e gás carbônico. Os carboidratos também atuam no corpo da cerveja (Rosa, 2014).
- Sais minerais: Contribuem para o perfil da cerveja, podendo afetar a aparência, o sabor e o aroma de uma cerveja. Podem também favorecer a atividade enzimática, rápida mosturação e floculação acelerada (LEWIS e YOUNG, 2002).

Para se produzir o mosto cervejeiro no processo de mosturação, variações de temperaturas (rampas de temperatura), tempo e pH ocorrem para assim se adequar as enzimas que irão atuar no malte (Aboumradi; Barcelos, 2015).

Deve-se pressupor que todo processo enzimático, está relacionado a temperatura, ao tempo, ao grau de acidez e a concentração do meio, Quadro 1.

Quadro 1: Faixa de trabalho de pH para as enzimas.

Enzima	Temperatura °C	Faixa de trabalho de pH	Função
$\beta$ -Glucanase	35 - 45	4,5 - 5,5	Melhora a quebra de goma.
Peptidase	45 - 55	4,6 - 5,3	Produz Amino Nitrogênio Livre
Protease	45 - 55	4,6 - 5,3	Hidrólise de proteínas
$\beta$ -Amilase	60 - 68	5,0 - 5,5	Produz maltose.
$\alpha$ -Amilase	65 - 72	5,3 - 5,7	Produz diversos açúcares.

Fonte: Adaptado de Aboumrads e Barcelos (2015).

A mosturação por infusão tradicional, é realizada uma tina de mosturação, manuseado tanto para solubilização das substâncias do malte quanto para separação do mosto.

### 3.2.3 Fermentação

Ao longo da fermentação, há a produção de etanol, dióxido de carbono e alguns constituintes. Nessa fase a sala de fermentação deve permanecer limpa para restringir prováveis questões de contaminação, e conter temperatura e umidade constantes para preservar a taxa de crescimento pretendida para a levedura. Cervejas são produzidas a partir de leveduras que atuam em temperaturas de 8°C a 15°C (Lager) e leveduras que atuam em temperaturas de 18°C a 24°C (Ale). Através da mudança da temperatura de fermentação, numerosas opções de cervejas podem ser preparadas (HARRISON; ALBANESE, 2009).

### 3.2.4 Maturação

A maturação é a etapa de reabsorção de metabolitos durante o descanso da cerveja, tanto para a baixa ou a alta temperatura, e assim beneficiar a precipitação das células de leveduras e das proteínas. Ela minimiza a turbidez e, ainda, obtém a clarificação da cerveja. Nessa técnica, que pode prolongar-se por 2 a 4 semanas, o odor e sabor da bebida são averiguados. No princípio, os carboidratos são

transformados em álcool etílico, CO<sub>2</sub>, glicerol, ácido acético, entre outros. Esta fase tem como objetivo iniciar a clarificação, saturar a cerveja com gás carbônico, melhorar o odor e sabor da bebida, além de manter a cerveja no estado reduzido, evitando oxidações. Ainda neste período, são formados ésteres responsáveis pelo aroma e sabor da cerveja, e ocorre a carbonatação natural da bebida (RIBEIRO et al, 2018).

### 3.2.5 Acondicionamento

Nos lugares em que a cerveja é servida no local, ela é deslocada para o tanque de cerveja pronta, e este a conserva. Em grandes cervejarias, para as quais a cerveja é transportada, ela é retirada do tanque após a quantidade de tempo apropriada de condicionamento, para ser filtrada e embarrilada, engarrafada ou enlatada. Estas últimas podem ser pasteurizadas a fim de desnaturar bactérias que possa ter evadido no decurso do processo. A pasteurização regula a cerveja aquecendo-a até elevadas temperaturas. No caso da pasteurização em túnel, água quente é borrifada sob as garrafas e latas por mais de uma hora (NACHEL, ETTLINGER, 2014).

### 3.3 Enzimas e a Alta Pressão

No presente, duas técnicas de tratamento de alimentos à alta pressão são aprofundadas: método hidrostático (UAP – Ultra Alta Pressão) e método de homogeneização (HAP - Homogeneização à Alta Pressão). O uso da alta pressão hidrostática pode ser uma possibilidade aos recursos tradicionais, por sua competência de ativar ou inativar enzimas. Peroxidases (POD) e polifenoloxidasas (PFO) são as enzimas vitais responsáveis por transformações indesejáveis das propriedades originais de produtos vegetais e, com a sua inativação pela alta pressão, é capaz de impedir o escurecimento enzimático e reter os traços sensoriais (MENEZES et al, 2008).

O resultado da alta pressão no processamento dos alimentos é um campo de interesse, já que esta pode desnaturar proteínas, solidificar lipídeos e quebrar biomembranas. Pode ainda, adulterar a ordenação de proteínas e músculo, e afetar a gelatinização do amido. Desse modo, conquanto a alta pressão seja famosa

comercialmente apenas como uma técnica de preservação, ela tem desmedido potencial como uma forma de modificação da textura dos alimentos, efetivando alterações nas interações hidrofóbicas e eletrostáticas (CARVALHO, 2007).

A tecnologia apresenta-se como um procedimento para garantir um alimento livre de microrganismos, de modo análogo à pasteurização térmica. De mesmo modo, a tecnologia de APH pode atuar na ativação e inativação de enzimas (TRIBST, 2013).

### 3.4 Cervejas fabricadas a Alta Pressão

A alta pressão tem a capacidade de inativar microrganismos de diversas maneiras, englobando a desnaturação das enzimas, danos à membrana celular e desintegração de ribossomos. Por conseguinte, leveduras e bolores, são especialmente muito susceptíveis à inativação por alta pressão, mas podem ser bastante rígidos em forma de ascósporos (MILIANI, RAMSEY, SILVA, 2016).

No procedimento de fabricação habitual de cerveja, a mosturação é a fase que visa majoritariamente proporcionar a hidrólise enzimática do amido através das enzimas internas  $\alpha$  e  $\beta$  amilases. A alta pressão hidrostática (APH) é apta para fomentar a gelatinização de amido e acionar as enzimas e, assim sendo, a mosturação comprova ser um estágio da produção de cerveja apropriado para empregar APH. A adaptação dessa tecnologia pode ser capaz de assegurar esta parte do processo sem a utilização do calor e com menor tempo de processo, o que poderia resultar em acréscimo no rendimento da indústria cervejeira (SANTOS, 2016).

De acordo com Santos (2016) diferentes condição de APH no processo de mosturação pôde mostrar ganhos de sólidos solúveis, carboidratos quando houve a elevação da intensidade de APH. Os dados experimentais obtidos por Santos (2016) comprova a grande interferência da pressão sem interferência do tempo. Os efeitos foram relacionados a gelatinização e hidrólise, com construção dos açúcares de interesse, especialmente a 500 MPa de pressão. A APH é uma tecnologia possível, tendo potencial para gerar significativo ganho de produtividade, visto que a alta pressão requer tempo reduzido (5 min versus 80 min do tratamento térmico) causando diminuição do consumo de energia (SANTOS, 2016).

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a obtenção do mosto, alta pressão hidrostática foi aplicada na etapa de mosturação, onde ocorre a ação das enzimas para produção do mosto.

O malte utilizado foi o do tipo Pilsen, produzido pela Cooperativa Agrária, disponibilizado pela Cervejaria Tauá da cidade de Campo Mourão, Paraná.

##### 4.1 Regulagem do pH da água

Água destilada utilizada, isenta de cloro e com pH corrigido para 5,3 através da adição de ácido láctico alimentício 85%.

##### 4.2 Moagem do malte de cevada

O malte foi moído a seco um dia antes da mosturação e armazenado em um local com temperatura ambiente.

##### 4.3 Mosturação

O malte moído misturado com a água pode ter diversas combinações, variando de 1:2,5 à 1:4 de acordo com Lewis (2015), para este estudo foi adicionado o malte com água na proporção 1:4 (malte/água) para garantir uma segurança ao utilizar o equipamento que precisa de um fluido para transmitir a pressão.

Foram conduzidos dois testes em dias diferentes nas condições indicadas pela Tabela 1. Os resultados das análises de pH, sólidos solúveis e turbidez foram calculados e apresentados como a média aritmética dos testes  $\pm$  desvio padrão. Os resultados para as análises de proteínas e açúcares redutores foram divididos por testes, afim de expressar melhor a tendência.

Tabela 1: Pressões e tempos aplicados.

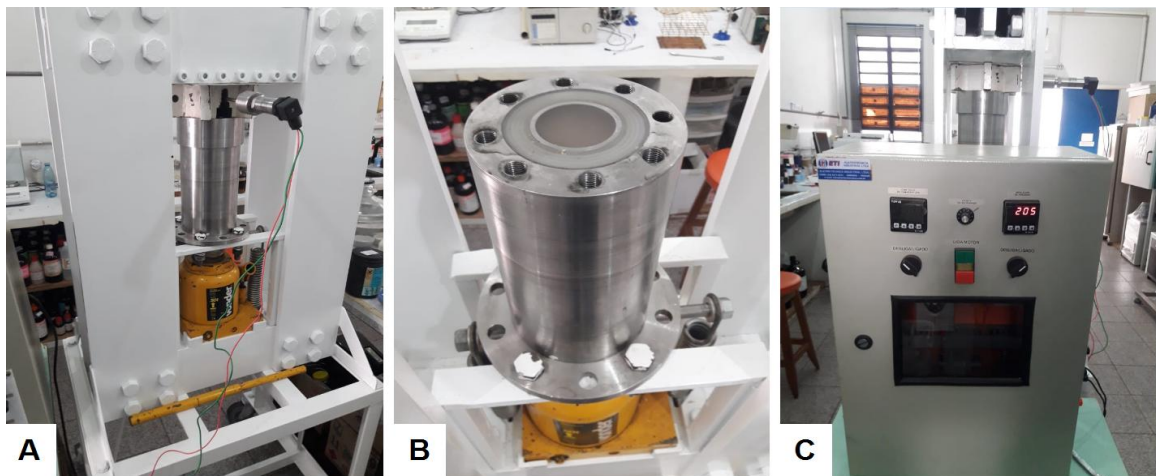
<b>Condição</b>	<b>Pressão (bar)</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Temperatura</b>
<b>1</b>	200	20	Ambiente
<b>2</b>	200	40	Ambiente
<b>3</b>	200	60	Ambiente

Fonte: Elaborada pelo autor.

O equipamento de alta pressão hidrostática utilizado, apresentado na Figura 2, encontra-se na Universidade Estadual de Maringá, localizado no Departamento de Engenharia Química, e tem a capacidade de operar em uma faixa de pressão de 100 a 200 bar. Possui um cilindro interno de aproximadamente 5 cm de diâmetro e 20 cm de comprimento.

O seu funcionamento consiste em um cilindro de aço inoxidável, com uma câmara, onde é colocado a amostra. O equipamento é controlado através de um painel para o ajuste da pressão como mostra a Figura 2.

Figura 2: Equipamento de alta pressão hidrostática.



- A - Equipamento de alta pressão em operação.
- B - Abertura do cilindro com o malte e água.
- C - Painel de controle da pressão.

Fonte: Própria (2019)

#### 4.4 Filtração

Utilizou-se um meio filtrante, Figura 3, para obter o mosto filtrado.

Figura 3: Filtragem.



Fonte: Própria (2019)

#### 4.5 Análise de Açúcares Redutores

O açúcar redutor foi determinado pelo método Lane-Eynon, segundo dita as normas do Instituto Adolfo Lutz (1985), utilizando-se solução de *Fehling*. Para a realização da análise, as amostras dos testes foram homogeneizadas com 6 mL de ferrocianeto de potássio 15 % e 6 mL de sulfato de zinco 15 % para floculação e sedimentação de materiais, em seguida obtém-se o filtrado que é titulado na solução de Fehling (com ebulição constante) até a redução íon bivalente da solução, obtendo-se coloração de tijolo. O resultado é expresso percentualmente, em termos de glicose e sacarose, respectivamente, considerando-se o peso da amostra integral ou seca.

#### 4.6 Análise de Sólidos Solúveis

Foi determinado o valor dos sólidos solúveis pelo índice de refração em refratômetro e o resultado é expresso em graus Brix (°Brix).

#### 4.7 Análise de pH

Os valores de pH do mosto são determinados utilizando um pH-metro ITMPA-210.

#### 4.8 Análise da Turbidez

A determinação da turbidez foi realizada pela metodologia de Dale, Tran e Lyddiatt (1995). Uma alíquota do mosto produzida foi medida em um espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited, Beijing, China), previamente calibrado com o branco (água destilada), programado para a medida de absorbância em 600 nm.

#### 4.9 Análise de Proteínas Totais

A quantificação de proteínas pelo método reagente de biureto foi realizada baseada na metodologia proposta por Gornall, Bardawill e David (1949). As análises foram feitas utilizando um padrão de caseína ( $3 \text{ mg.mL}^{-1}$ ). Cinco tubos foram preparados; o primeiro tubo continha 4 mL de água destilada (padrão) e os outros



tubos fez-se a redução de 0,5 mL de água destilada e adição de 0,5 mL de padrão de caseína tubo ao tubo, obtendo no quinto tubo 1,5 mL de água destilada e 2,5 mL de padrão de caseína. Foram preparados as amostras, uma com 3,5 mL de água destilada e 0,5 mL de mosto pressurizado , e a outra com 3,0 mL de água destilada e 1 mL de mosto pressurizado. Todos os tubos passaram por leitura de absorbância em espectrofotômetro na região de 540 nm. Então, foi realizada um gráfico concentração de caseína x absorbância. Foi obtida a curva de calibração, construída com padrões de extrato de caseína ( $y = 0,0272x+0,054$ ;  $R^2 = 0,9994$ ) e expressos em miligramas de equivalente de caseína por litro ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), os valores dos tubos das amostras foram interpolados com a curva de calibração para obter a concentração de proteína no mosto.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análises Físico-Químicas

Os resultados obtidos representam as médias de todas as amostras dos dois testes realizados.

Os resultados de pH, °Brix, turbidez e proteínas foram submetidos a ANOVA utilizando o teste de Tukey com probabilidade de 5 % para verificar as diferenças entre os mostos pressurizados.

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos das análises dos mostos pressurizados.

Tabela 2: Análises Físico-Químicas dos mostos pressurizados.

Análises	Condição		
	1	2	3
	200 bar/20 min	200 bar/40 min	200 bar/60 min
pH	5,74 <sup>a</sup> ± 0,2	5,72 <sup>ab</sup> ± 0,2	5,86 <sup>bc</sup> ± 0,1
° Brix	2,75 <sup>a</sup> ± 0,1	3,5 <sup>b</sup> ± 0,5	5,1 <sup>c</sup> ± 0,0

Notas: Médias ± desvio padrão. Valores na linha seguidos da mesma letra não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 5.1.1 pH

De acordo com Aboumrad e Barcelos (2015), a água para a mosturação deve ser neutra (pH = 7), mas quando há a adição do malte na água, seu pH muda para uma faixa de tamponamento de 5,2, o que pode maximizar a ação de certas enzimas.

Para este trabalho, a água utilizada com o malte moído foi preparada e estabilizada em pH 5,3. Após a adição do malte, pode-se observar que houve uma faixa de tamponamento de 5,7 a 5,8 nas amostras. Partindo de um grão vegetal utilizado para a mosturação, podemos entender que houve um tamponamento espontâneo do próprio meio para retornar ao equilíbrio. Dessa forma, a alta pressão não alterou o pH de forma significativa, descartando assim faixas de trabalho de pH

para algumas enzimas. No Quadro 1 estão indicadas as faixas ótimas de trabalho para as enzimas.

#### 5.1.2 °Brix

No final da mosturação o °brix (sólidos solúveis ou açúcar) do mosto pode chegar, de acordo com Brasil (2009), a aproximadamente 12 °brix, classificadas como comuns pela legislação. Com isso é possível fazer a fervura corrigindo e disponibilizando sólidos solúveis (°brix) necessários para a etapa da fermentação.

Os resultados obtidos após o tratamento mostraram que houve interferência da pressão ao longo do tempo na ação enzimática. Como observado na Tabela 2, houve um baixo valor de °brix entre as amostras.

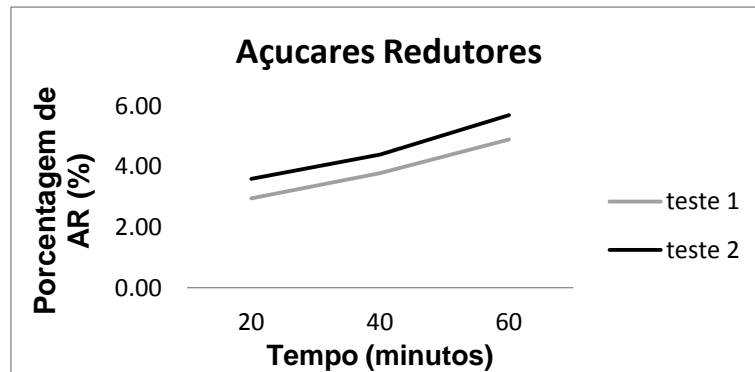
#### 5.1.3 Turbidez

Os resultados obtidos em relação a turbidez mostraram-se inadequados e sem expressão. A suspensão de materiais no mosto forneceu resultados elevados de, 2605,5, 2816 e 2935 para as condições 1, 2 e 3 respectivamente, leituras próximas ao limite de leitura do espectrofotômetro. A análise de turbidez, na maioria das vezes, está relacionada à formação da proteína, podendo então a turbidez ser um indicativo de ações enzimáticas. Nesse estudo, não teve um resultado que conseguisse expressar os efeitos da alta pressão.

#### 5.2 Açúcares Redutores (AR)

Para analisar os açúcares redutores fez-se a divisão entre os testes Gráfico 1, comparando assim os resultados dos açúcares redutores das condições 1, 2 e 3 para melhor verificar a tendência gerada pelo efeito da alta pressão.

Gráfico 1: Açúcares redutores, comparação entre os testes 1 e 2.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os açúcares redutores obtidos nos testes mostraram que houve ação enzimática na pressão de 200 bar com maior eficiência no tempo de 60 minutos. Ademais observa-se que as diferenças entre os tempos em cada teste foram significativas. Isso indica que a melhor ação enzimática a 200 Bar de pressão pode ser obtida aumentando o tempo de tratamento. Desse modo quanto maior o teor de AR, maior será o teor de açúcares disponíveis para a ação das leveduras na etapa de fermentação.

Tabela 3: Análise de Açúcares redutores (AR) das amostras.

Condição	Amostras		
	1	2	3
	200 bar/20min	200 bar/40min	200 bar/60min
1º teste	2,95 <sup>a</sup> ± 0,24	3,79 <sup>b</sup> ± 0,30	4,90 <sup>c</sup> ± 0,21
2º teste	3,60 <sup>a</sup> ± 0,21	4,40 <sup>b</sup> ± 0,14	5,70 <sup>c</sup> ± 0,23

Notas: Médias em porcentagem ± desvio padrão. Valores na linha seguidos da mesma letra não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

De acordo com Barbosa (2016), os açúcares redutores do mosto cervejeiro obtidos pelo método tradicional estão ao redor de 7,83 %. Dessa forma, nenhuma das condições de tratamento aplicadas foram capazes de atingir valores de AR que podem ser obtidos pelo método tradicional.

### 5.3 Determinação de proteínas

Os resultados da análise de proteínas são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Proteínas (porcentagem) e desvio padrão.

Análise	Amostras		
	1 200 bar/20min	2 200 bar/40min	3 200 bar/60min
1º teste	0,4392 <sup>a</sup> ± 0,890	0,2304 <sup>ab</sup> ± 0,095	0,1931 <sup>bc</sup> ± 0,189
2º teste	0,1486 <sup>a</sup> ± 0,010	0,1442 <sup>ab</sup> ± 0,010	0,1416 <sup>bc</sup> ± 0,003

Notas: Médias em porcentagem ± desvio padrão. Valores na linha seguidos da mesma letra não apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Como pode ser observado, o desvio padrão foi elevado, bem como a diferença nos níveis de proteína entre os tempos de pressurização. Isso pode ter ocorrido devido a erro de suspensão de sólidos no momento da leitura da absorbância.

Os valores obtidos no 2º teste resultaram em uma porcentagem de proteína baixa, já que o valor médio comumente encontrado de proteínas é de 0,43 % (Araujo, 2016).

Não houve diferença significativa para o teor de proteínas entre os tempos de 20 e 40 min e também entre 40 e 60 min a 200 Bar. Diferença significativa foi observada somente entre 20 e 60 min de tratamento. De forma geral, os resultados indicaram uma tendência em diminuir à medida que aumentou o tempo a alta pressão. Do ponto de vista do processo de elaboração da cerveja, este resultado indicaria que algumas proteínas sofreram modificação em sua estrutura devido à atuação das enzimas proteolíticas durante o tempo a alta pressão. Isso poderia indicar que maior o tempo de exposição a alta pressão produziria melhor ação das enzimas. Cabe ressaltar que a mosturação a alta pressão teve a faixa de pH entre 5,74 a 5,86, como observado no Quadro 1.

A alta pressão não foi capaz de mudar o tamponamento do mosto, atuando somente entre as faixas de pH de atuação de enzimas relacionadas à produção de açúcares.

## 6. CONCLUSÃO

A utilização da alta pressão na etapa de mosturação da cerveja mostrou ser eficiente para aumentar a hidrólise das enzimas, sendo maior os açúcares redutores e °brix no tempo de 60 minutos. Ademais, cabe ressaltar que não houve inativação da enzima devido ao tempo e a pressão. Pode-se concluir que as enzimas permaneceram ativas na pressão de 200 bar por 60 minutos.

Outro ponto importante obtido neste trabalho, foi observar que a pressão de 200 bar não foi capaz de alterar o tamponamento das amostras (5,6 – 5,8), o que resultou em uma faixa de trabalho de pH ideal apenas para enzimas que produzem açúcares ( $\alpha$ -Amilase 5,3 – 5,7).

Nota-se ainda que, para as condições de tempo a 200 bar de pressão, seria possível alcançar a ação das enzimas proteolíticas, quando essas atuarem em um tamponamento ideal a sua faixa de trabalho de pH (Peptidase e Protease 4,6 – 5,3). Para isto, seria necessário que as amostras fossem calibradas com as faixas de pH ideal para essas enzimas, e assim observar se ocorreria hidrólise das proteínas. Adicionalmente se poderia observar se enzimas são capazes de alterar a faixa inicial de tamponamento ao longo do tempo, permitindo a ação de outras enzimas neste processo.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABOUMRAD, J. P. C; BARCELOS Y. C. M. **Análise e simulação das operações de mosturação e fermentação no processo de produção de cervejas**. -- Niterói, Rio de Janeiro : [s.n.], 2015.
- ARAÚJO, G. S. **Elaboração de uma cerveja ale utilizando melão de coroa [Sicana odorífera (Vell.) Naudim] como adjunto do malte**. Faculdade de Engenharia Química Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Federal da Bahia. Salvador, Bahia, 2016.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Association of Analytical Communities**. 17 ed. Gaithersburg, Maryland, 2000.
- Bandinelli, P.C. Estudo de caso de melhoria no processo de mosturação de uma cervejaria no RS**. Porto Alegre, 2015. Disponível em: < <http://hdl.handle.net/10183/131362>> acesso em: 12 OUT. 2018
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Decreto nº 6.871, de 04. Regulamenta da Lei no . 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de bebidas**. Diário Oficial da União, Brasília, 04 de junho de 2009.
- CANÓVAS, G. B.; VEJA-MERCADO, H.; **Dehydration of foods**. Editora Chapman & Hall, p. 265-284. Nova Iorque, 1996.
- CARVALHO, M. G. **Tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos**. Mestrado em Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará. 2007.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed. Editora Unicamp. Campinas, 2003.
- CHEAH, P.B.; LEDWARD D.A. **Inhibition of metmyoglobin formation in fresh beef by pressure treatment**. p 411-418. Reading, 1997.

EISENMENGER, M. J.; REYES-DE-CORCUERA, J. I. High pressure enhancement of enzymes: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, n. 5, p. 331–347, 2009.

EßLINGER H. M. **Handbook of Brewing: Processes, Technology, Markets**. WILEY-VWC. p. 1-779, Weinheim, 2009.

ESKIN, M; SHAHIDI, F. **Bioquímica de Alimentos**. 3 ed. Tradução de Biochemistry of Foods. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

FILHO, W. G. V. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. 2 ed. Blucher, 2016.

Fischer S.; Schöberl H.; Ruß W.; Meyer-Pittroff R. **The Effects of Hydrostatic High Pressure on the Brewing Process and Beer**. In: Ludwig H. (eds) *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology*. 1999, Berlin.

GASPARETTI F. **ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA – TECNOLOGIA PROMISSORA NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS**. Araçatuba, 2014.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. **Determination of serum proteins by means of the biuret reaction**. J. Biol. Chem. Pg 177, 751. 1949.

HARRISON, M. A; ALBANESE JR, J. B. **Beer/Brewing**. Reference Module in Life Sciences, Encyclopedia of Microbiology, p. 23-33, 2009.

HORNSEY, I. S. **Beer: History and Types**. Reference Module in Food Science, Encyclopedia of Food and Health. Elsevier, p. 345-354, 2016.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. IMESP, São Paulo, 2005.

JAENICKE, R.; BÖHM, G. The stability of Proteins in Extreme Environments. **Currents Opinion in Structural Biology**. V. 8, p. 738-748. Regensburg, 1998.

KOLJONEN, T.; HAMALAINEN, J.J.; SJOHOLM, K. A model for the prediction of fermentable sugar concentrations during mashing. **Journal of Food Engineering**, Elsevier, Vol. 26, p. 329–350. Finlândia, 1995.



- KUCK, L. S. **Cerveja: Sabor e Aroma**, Pelotas, p. 1-46, 2008.
- LEATHER, R.V.; WARD I.L.; DALE C.J. The effect of wort pH on copper fining performance. **Journal of the Institute of Brewing**, 101, 187–190. Birmingham, 1995.
- LEWIS, M. J.; YOUNG, T. W. **Brewing**. 2<sup>a</sup>. ed. Nova Iorque: Publishers, Kluwer Academic/ Plenum, v. I, Nova Iorque, 2002.
- LEWIS, A. Control Mash Thickness. **The Best of Brew Your Own - Guide to All-Grain Brewing** , Estados Unidos, p. 28-29, janeiro. 2015.
- LI, Q; WANG, J; LIU, C. **Beers**. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering, Food and Beverages Industry. Elsevier, p. 305-351, 2017.
- MEGA, J. F; NEVES, E; ANDRADE, C. J. **A produção de cerveja no Brasil**. Revista Citino – Ciência, Tecnologia, Inovação e Oportunidade. Vol. 1, No. 1, 2011.
- MENEZES, E. M. S. et al. **Efeito da alta pressão hidrostática na atividade de enzimas da polpa de açaí**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, p. 14-19, 2008.
- MILIANI, E. A; RAMSEY, J. G; SILVA, F. V. M. **High pressure processing and thermosonication of beer: Comparing the energy requirements and *Saccharomyces cerevisiae* ascospores inactivation with thermal processing and modeling**. Journal of Food Engineering, Vol. 181, p. 35-41, 2016.
- SINO
- NACHEL, M; ETTLINGER, S. **Cerveja para Leigos**. Tradução da 2<sup>a</sup> edição, Alta Books, Brasil, 2014.
- NORONHA J.; BRITES, A.; ROSA, F; RENDEIRO, J.; GOMES, M.; VIEIRA, T. **Processamento Geral de Alimentos. Módulo II Altas Pressões na Indústria Alimentar**, Coimbra, 2009.
- ORTIZ, P. R. B. **Análise do consumo energético do processo de produção de cerveja artesanal por bateladas**. Porto Alegre, 2014.

RAHMAN, M.S., **Handbook of Food Preservation**. Marcel Dekker. P. 533-569, 1998, Nova Iorque – Nova Iorque.

REBELLO, F. F. P. **Revisão – Produção de cerveja**. Revista Agrogeoambiental. Vol.1, No. 3. Pouso Alegre, Minas Gerais. 2009.

ROSA, M. H. S. **Produção artesanal de uma cerveja tipo Pilsen e análise da etapa de fermentação visando à identificação de possíveis melhorias no processo**. Trabalho de Graduação – Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Lorena, São Paulo, 2014.

SANTOS, L. M. R. **Influência da alta pressão hidrostática na sacificação do mosto cervejeiro**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016.

SANTOS, S. P. **Os primórdios da cerveja no Brasil**. 2 ed. Cotia: Ateliê Editorial, 2004, c2003. 56p.

SERRANO, J.; VELAZQUEZ, G.; PETCHARAT, K.; RAMIREZ, J. A.; TORRES, J. A. Moderately High Hydrostatic Pressure Processing to Reduce Production Costs of Shredded Cheese: Microstructure, Texture, and Sensory Properties of Shredded Milled Curd Cheddar. **Journal of food science**. Vol. 70, n 4, 2005.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. 16, 144-158. Davis. CA, 1965.

SOUSA, E. S.; GONÇALVES, A. A. tecnologia de alta pressão aplicada ao pescado. **Higiene Alimentar**. v.27, p.140–141. Mossoró, 2013.

RIBEIRO, B. D. et al. **Microbiologia Industrial: Alimentos**. 1 ed. Vol. 2. Elsevier Editora Ltda, 2018.

TRIBST, A. A. L. **Efeito da homogeneização à alta pressão na atividade e estabilidade de enzimas comerciais**. Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) – Unicamp, Campinas, 2013.

TELES, J. A. **Estudo da produção de mosto concentrado lupulado a partir de extrato de malte concentrado, xarope de alta maltose e lúpulo**. Dissertação de

mestrado – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, São Paulo, 2007.

TÉLLEZ-LUIS, S. J.; RAMÍREZ, J.A.; PÉREZ, C. L.; VÁZQUEZ, M.; SIMAL, G. J. **Aplicación de La alta presión hidrostática em La conservación de lós alimentos. Ciencia y tecnoloíga alimentaria**, vol 3, n 2, p. 66-80, 2001.