

## Comparação físico-química entre cervejas do tipo American Pale Ale com e sem adição de enzima clarificante

Leilane Costa de Conto | <https://orcid.org/0009-0004-1041-9259>

Ana Carolina Lovatel | <https://orcid.org/0000-0002-0633-2730>

Willian Lunardi | <https://orcid.org/0000-0002-0251-3171>

### RESUMO

O mercado cervejeiro artesanal está em constante crescimento nos últimos anos além de fornecer diferentes estilos vem atendendo também à demanda de pessoas que apresentam intolerância ao glúten, os celíacos. Algumas das alternativas para a produção deste tipo de cervejas são utilizar insumos que não derivem de cereais que contenham glúten, bem como a utilização de enzimas de micro-organismos que degradam moléculas de glúten como *Aspergillus niger*. O objetivo deste trabalho foi avaliar características físico-químicas de cervejas artesanais do tipo American Pale Ale (APA) produzidas com e sem adição de enzimas e uma cerveja do mesmo estilo comercial sem glúten. Os ensaios de caracterização físico-química das cervejas do tipo American Pale Ale foram feitos em 3 tratamentos, sendo dois tratamentos com as cervejas produzidas de forma artesanal com enzima Clarity Ferm WLN 4000 HB (E); tratamento padrão sem enzima (P), e um terceiro tratamento constituído de uma cerveja comercial (C). As cervejas foram analisadas em duas garrafas com 3 repetições procedendo as avaliações de sólidos solúveis (brix), acidez total, pH, compostos fenólicos totais, teor alcoólico, taninos, cor, flavonóides, turbidez e proteínas. Os resultados apresentados ficaram dentro do limite aceitável para o estilo APA produzido e demonstram que existem diferenças físico-químicas nos tratamentos testados, em especial na turbidez e no teor de proteínas.

**Palavras-chave:** cerveja artesanal; *aspergillus niger*; glúten.

## Physical-chemical comparison between American Pale Ale beers with and without adding a clarifying enzyme

### ABSTRACT

The craft beer market has been constantly growing in recent years, in addition to providing different styles. It has also been serving the market for people who have gluten intolerance, the celiacs. Some of the alternatives are to use inputs that are not derived from cereals that contain gluten, or to use microorganisms enzymes that degrade gluten molecules such as *Aspergillus niger*. The objective of this work was to evaluate the physical and chemical characteristics of craft beers of the American Pale Ale (APA) type produced with and without gluten and a beer of the same commercial style. The physical chemical characterization tests of the beers were carried out in 3 treatments, with the enzyme Clarity Ferm WLN 4000 HB (E); standard treatment without enzyme (P), these are produced by hand; and a third treatment consisting of a commercial beer (C), these following the APA style manufacturing recommendations. The beers were analyzed in two bottles and these in turn in 3 repetitions per bottle, evaluating soluble solids (brix), total acidity, pH, total phenolic compounds, alcohol content, tannins, color, flavonoids, turbidity and proteins. The results presented were within the acceptable limit for the style produced and demonstrate that there are physical and chemical differences in the treatments tested, especially in turbidity and protein content.

**Keywords:** craft beer; *aspergillus niger*; enzyme; gluten.

---

Recebido em: 31/3/2023. Aprovado em: 8/11/2024.

Avaliado pelo sistema duplo-anônimo. Publicado conforme as normas da ABNT.

<https://doi.org/10.35700/2316-8382.2025.v15Nesp.3553>

## INTRODUÇÃO

A cerveja é definida como uma bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada maltada 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 maltada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro (Brasil, 2019).

As cervejas podem ser classificadas segundo seu tipo de fermentação em *Lager* (baixa fermentação) e *Ale* (alta fermentação). Dentro deste último grupo se destacam as cervejas do estilo *Pale Ale*. O seu nome está relacionado a sua cor, a qual apresenta-se mais clara se comparada a outras *Ale* conhecidas (*Pale*, do inglês “pálido”), compreendendo uma coloração palha, próximo ao dourado. Possuem um aroma pronunciado e geralmente são mais encorpadas, amargas e aromáticas que a *Pilsen* (BJCP, 2021; Sidooski, 2011).

A *American Pale Ale* (APA) caracteriza-se por ser uma cerveja *Pale Ale* refrescante, lupada de coloração clara variando do dourado ao âmbar claro. A categoria dessa cerveja define-se pelo uso de lúpulos e maltes de origem americana, que transmitem um forte aroma a bebida, bem como um leve dulçor e notas características destes ingredientes (BJCP, 2021).

Com uma forte expansão da produção artesanal de cervejas, o estilo APA vem conquistando os consumidores, sendo que as cervejas *Pale Ale* englobam os estilos de cervejas de alta fermentação mais conhecidas e apreciadas do mundo (Costantin, 2022).

O setor cervejeiro caracteriza-se como um dos mais relevantes da economia brasileira, com investimentos na casa dos bilhões de reais (Lima *et al.* 2017). O Brasil se destaca como o terceiro maior produtor do mundial de cerveja, com mais de 1.190 empresas registradas e produção de 14 bilhões de litros por ano. Essa produção representou cerca de 2% do Produto Interno Bruto (PIB), com faturamento de R\$ 100 bilhões no ano de 2019 e geração de 2,7 milhões de empregos (MAPA, 2019). Os dados publicados no Anuário da Cerveja destacam que no ano de 2019 as cervejarias somavam um montante de 27.329 rótulos diversos, tornando a bebida o marco de maior número de registros no país, que representa 28,5% de todos os produtos cadastrados no Mapa. Em média cada estabelecimento tem 22 registros, ou seja, 22 rótulos para fornecer aos seus consumidores (MAPA, 2020).

Acompanhando essa expansão de mercado e toda essa variedade de rótulos, surgem vastos nichos de produção, que por sua vez tendem a atender os mais diversos gostos, paladares e até mesmo necessidade, como é o caso dos celíacos que tem intolerância ao glúten e precisam de cervejas diferenciadas para poderem consumir esse produto.

O glúten é uma proteína elástica, aderente, insolúvel em água, responsável pela estrutura das massas alimentícias e que também está presente em cervejas. Esta proteína é constituída por frações de gliadina e de glutenina, que, na farinha de trigo, totalizam 85% da fração proteica. Ainda pode estar presente em outros cereais, como cevada, centeio e aveia, nas formas, respectivamente, de hordeína, secalina e avenina (Araújo *et al.* 2010). Estes cereais são base na fabricação de cervejas (maltes), o que gera um impacto importante sobre a população de celíacos, uma vez que estas representam 1% da população mundial (Watson *et al.* 2019). Os portadores desta doença não têm tratamentos médicos eficazes, como remédios ou vacinas, sendo a única alternativa uma dieta restrita em glúten ao longo de toda vida (Wieser *et al.* 2014; Scherf, 2015; Scherf *et al.* 2016).

No Brasil não existe uma legislação que estipula os limites toleráveis de glúten permitidos nos alimentos. Porém a Lei nº 10.674/2003 (Brasil, 2003) estabelece que todo alimento vendido já embalado deve conter a expressão “CONTÉM GLÚTEN” ou “NÃO CONTÉM GLÚTEN”, como uma medida preventiva. Entretanto, até 2015 a ANVISA seguia os limites estipulados pelo CODEX ALIMENTARIUS, que estabelecia que os alimentos e bebidas que apresentam até 20 ppm de glúten são seguros para o consumo por pessoas celíacas, ou seja, isso significa que em 1 kg de alimento são aceitos 20 mg de glúten (CODEX, 2021).

Mesmo sendo um limite considerado baixo, os 20 ppm quando se trata de celíaco agudo pode causar alergias, o que fez com que a ANVISA, do ano de 2015, estabelecesse a RDC N° 26, DE 2 DE JULHO DE 2015, passando a categorizar alimentos sem glúten aqueles que, quando analisados laboratorialmente, apresentem quantidades “indetermináveis” de glúten (ANVISA, 2015), pois admite-se que existem diversos graus da doença celíaca. Devido a estas restrições aos alimentos e bebidas sem glúten, estes devem seguir dois caminhos: produtos feitos de grãos sem glúten ou produtos contendo glúten processados para obter um teor final de glúten abaixo do nível que o organismo tolere (Watson *et al.*, 2019).

As cervejas rotuladas como sem glúten normalmente são elaboradas com grãos que não contêm glúten, com os maltes provenientes de cereais como o milho, sorgo, trigo sarraceno, arroz. O uso de cereais sem glúten na produção de cerveja pode afetar negativamente o aroma, o sabor e outros parâmetros sensoriais da cerveja, além de apresentarem problemas tecnológicos (CELA *et al.* 2020). Estes cereais conferem às cervejas um perfil de sabor muito diferente do que cervejas de malte tradicionais, mas foram por muito tempo a única opção para as pessoas com intolerância ao glúten (van Zandycke, 2014).

Devido a estas diferenças sensoriais, vêm-se estudando alternativas para a eliminação do glúten de cervejas produzidas com as matérias-primas originais. Assim, uma alternativa eficiente é a utilização de enzimas clarificantes. A enzima proveniente do *Aspergillus niger* é amplamente utilizada para estabilização de cervejas, esta apresenta prolil (ou prolinaespecífica – nome comercial Brewers Clarex) que é uma endoprotease (Craig; Van Roon, 2007). As proteínas sensíveis à ação desta enzima são causadoras de turbidez e estão contidas na fração de hordeína do grão da cevada, assim a enzima tem essencialmente uma aplicação dupla ao quebrar os epítomos tóxicos do glúten, tornando-os não reativos para o organismo dos consumidores (Stepniak *et al.*, 2006). Além disso, com uma pequena adição da enzima no início da fermentação, a cerveja pode ser estabilizada por um período de até um ano, sem qualquer efeito sobre a espuma (que tem pouca prolina) ou sabor (Van Zandycke, 2014).

Com base nos dados expostos, o objetivo deste trabalho foi avaliar características físico-químicas de cervejas artesanais do Tipo American Pale Ale, sendo uma comercial sem glúten e duas produzidas pelos autores, onde uma teve a adição de enzimas clarificantes e outra não, buscando-se a redução de glúten na cerveja clarificada enzimaticamente.

## METODOLOGIA

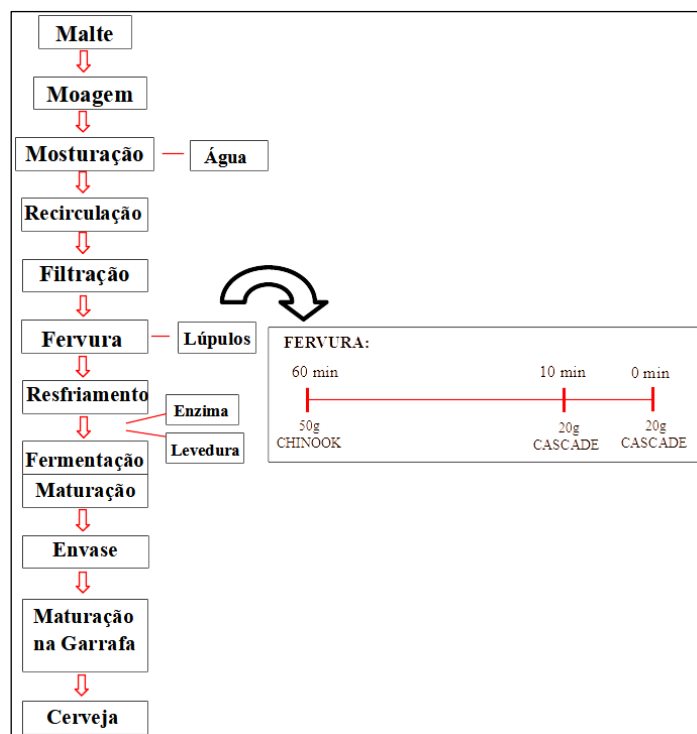
### MATÉRIAS-PRIMAS

Para a produção da cerveja artesanal, foi escolhido o estilo American Pale Ale (APA), em um volume de 20 L. Os insumos usados foram adquiridos no comércio da cidade de Lages, Santa Catarina, com exceção da enzima Clarity Ferm WLN 4000 HB, que foi adquirida em loja online. Conforme a formulação seguida, foram adquiridos 3 tipos de malte, estes nas proporções de 3 kg de malte Pilsen, 1 kg de malte Munich e 0,5 kg de malte Cara Ruby. Foi utilizada água potável e dois tipos de lúpulo, sendo 50 g de Chinook e 40 g de Cascade, ainda se fez uso da levedura Sachet US05.

### PRODUÇÃO DA CERVEJA

As cervejas foram produzidas no Instituto Federal de Santa Catarina, Campus de Lages. O processo de produção da cerveja estilo APA com glúten e sem adição de enzima estão descritos no fluxograma apresentado na Figura 1.

Figura 1- Fluxograma geral do processo produtivo das duas cervejas de estilo APA.



Fonte: Autores.

O passo inicial no processo de produção das cervejas foi à etapa de brasagem, onde ocorreu a adição de 14 litros de água primária a 45°C em uma panela cervejeira com os maltes moídos sobre um tecido para realizar a filtração. Em seguida a mistura foi aquecida até atingir 67°C, e mantida por 60

minutos, com verificação da sacarificação por teste de iodo. Posteriormente, a temperatura foi elevada para 78°C por mais 10 minutos para o Mash out. Logo após, realizou-se a recirculação do mosto por aproximadamente 60 minutos, processando a clarificação e a filtração do mosto.

A parte líquida seguiu para a etapa de fervura por 60 minutos e a parte sólida descartada. Foi efetuada a lupulagem com a adição de 50 g do lúpulo Chinook (lúpulo de amargor) no início da fervura, 20 g de Cascade na segunda adição com 10 minutos faltando para o término da fervura, e por fim, mais 20 g de Cascade, no momento que se desligou a panela cervejeira, conforme Figura 1. Este mosto quente foi resfriado e seguiu para a separação do trub continuar o processo.

Com o mosto abaixo de 30 °C, foi realizada a correção dos sólidos solúveis de 19° Brix até o desejado 12,5° Brix, adicionando-se água. Ao final obtivemos um montante de 15,2 litros de mosto de cerveja estilo APA. Este volume foi dividido em dois baldes com volumes iguais, no primeiro deles adicionou-se a enzima clarificante (*Aspergillus niger*) junto a levedura para a fermentação (E) e no outro apenas a levedura (P).

Os dois ensaios foram acondicionados em temperatura controlada: 25°C ao primeiro dia; 17°C entre o segundo e sétimo dias de fermentação; e 0°C a partir do sétimo dia, para a realização do processo de maturação do mosto fermentado. Decorridos este período ocorreu o engarrafamento das cervejas, onde se realizou o *priming* da cerveja, através da adição de 6 g.L-1 de açúcar como fonte de sacarose, diretamente em garrafas de 600 mL previamente higienizadas. Após o engarrafamento, as garrafas foram mantidas na temperatura de 16 °C durante 7 dias com a finalidade de carbonatação das cervejas. Decorrido este período ajustou-se a temperatura para 0°C até se realizar as análises físico-químicas.

## ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas das cervejas foram realizadas no Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages-SC, da Universidade do Estado de Santa Catarina. Foram realizadas as análises de 3 tratamentos: cerveja APA padrão (P); cerveja APA tratada com enzima (E); e cerveja APA comercial sem glúten (C). Para cada tratamento foram realizadas análises em duas garrafas e estas por sua vez em 3 repetições por garrafa, totalizando um n igual a 6.

O índice de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu, segundo a metodologia Singleton e Rossi (1965) com adaptações.

O teor de flavonóides foi determinado pelo método colorimétrico onde se realizaram leituras das absorbâncias em espectrofotômetro digital da marca Biospectro, Modelo SP-220, no comprimento de onda de 510 nm, conforme metodologia adaptada de Meda *et al.* (2005) e Ahn *et al.* (2007).

Para analisar quantidade de taninos as cervejas seguimos a metodologia descrita por Lowenthal (1877), onde o cálculo do percentual de taninos totais presentes na amostra (expressos em equivalentes de ácido tânico) foi realizado de acordo com a Eq.1:

$$(\% \text{ taninos totais}) = (X-Y)/10. \quad (\text{Eq.1})$$

A análise de cor foi realizada por espectrofotometria conforme o método padrão de referência European Brewing Convention (EBC, 2005). Com o espectrofotômetro digital da marca Bioespectro, Modelo SP-220 previamente calibrados com água destilada, as amostras foram submetidas à leitura de comprimento de onda de 430 nm. A unidade de cor foi calculada a partir da Eq.2:

$$(\text{Cor}) = \text{Absorbância (430 nm)} \times 10 \text{ (fator de diluição)} \times 25. \quad (\text{Eq.2})$$

A análise de sólidos solúveis foi realizada através da leitura direta em refratômetro portátil com valor corrigido a 20°C e os resultados expressos em °Brix. A análise do pH foi realizada com auxílio do pHmetro da marca Tecnal modelo TEC-7, a acidez titulável e o teor alcoólico foram determinados segundo metodologia da EBC (2005).

A turbidez foi quantificada conforme a metodologia descrita por Dale, Tran e Lyddiatt (1995) por espectrofotometria. Alíquotas de 3 mL foram coletadas na região superficial de cada uma das amostras, seguida da leitura da absorbância no comprimento de onda de 600 nm em espectrofotômetro (modelo ChromTech, Spectrophotometer modelo V 1200) previamente calibrado com água destilada.

A quantificação de proteínas pelo método de biureto foi realizada baseada na metodologia proposta por Gornall, Bardawill e David (1949). Foram adicionados em tubos de vidro 500 µL da amostra de cerveja, 3,5 mL de água destilada e 5 mL de reagente de biureto, agitou-se os tubos com auxílio de um vórtex de bancada e em seguida deixado os mesmos em repouso por 30 min. Logo após, leu-se na absorbância de 540 nm em espectrofotômetro digital da marca ChromTech, Spectrophotometer modelo V 1200, previamente calibrado com uma amostra em branco com o reagente de biureto. Os valores de proteína foram interpolados através da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrão de caseína ( $y = 0,0255x + 0,0016$ ;  $R^2 = 0,9976$ ) e expressos em gramas equivalente de proteína por litro de cerveja (g/L).

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com aplicação do teste F e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade com uso do Software Statistica 7.0 (Statsoft, 2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de sólidos solúveis totais, compostos fenólicos totais, teor alcoólico, taninos e flavonóides não apresentaram diferenças estatísticas significativas para os tratamentos avaliados, conforme Tabela 1.

Os tratamentos testados apresentaram diferenças significativas para acidez total, pH, cor, turbidez e teor de proteína (Tabela 1). O tratamento com adição de enzima a base de *Aspergillus niger* (E) apresentou as maiores médias em quatro destes, com exceção da cor, que a maior média foi para o tratamento padrão sem adição de enzima (P), embora ambos não tenham apresentado diferenças significativas.

Tabela 1 – Análise dos parâmetros físico-químicos das cervejas de estilo APA para os tratamentos com enzima (E), padrão sem enzima (P) e comercial (C).

PARÂMETROS	TRATAMENTOS		
	E	P	C
Sólidos solúveis (brix)	5,48 ± 0,20 <sup>ns</sup>	5,52 ± 0,25 <sup>ns</sup>	5,68 ± 0,19 <sup>ns</sup>
Acidez Total (meq/L)	43,58 ± 1,22 <sup>a</sup>	40,51 ± 3,16 <sup>ab</sup>	38,82 ± 2,59 <sup>b</sup>
pH	4,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,05 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,90 ± 0,02 <sup>c</sup>
Compostos Fenólicos Totais (mg GAE/L)	396,95 ± 10,57 <sup>ns</sup>	504,02 ± 19,81 <sup>ns</sup>	393,67 ± 10,28 <sup>ns</sup>
Teor alcoólico (% v/v)	4,63 ± 0,85 <sup>ns</sup>	4,58 ± 0,71 <sup>ns</sup>	5,38 ± 0,83 <sup>ns</sup>
Taninos (%)	0,09 ± 0,02 <sup>ns</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>ns</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>ns</sup>
Cor (EBC)	32,33 ± 0,77 <sup>a</sup>	33,21 ± 2,05 <sup>a</sup>	14,71 ± 0,40 <sup>b</sup>
Flavonóides (mg QE/L)	44,46 ± 8,30 <sup>ns</sup>	40,69 ± 6,76 <sup>ns</sup>	35,99 ± 1,30 <sup>ns</sup>
Turbidez (NTU)	0,11 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,03 <sup>a</sup>
Proteínas (g/L)	4,38 ± 0,46 <sup>a</sup>	3,75 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,29 ± 0,08 <sup>c</sup>

As letras diferentes na linha apontam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) e ns aponta que as médias não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para os parâmetros físico-químicos das cervejas. N=6. E= cerveja APA tratada com enzima; P = cerveja APA; e C = cerveja APA comercial. Fonte: os autores.

No que diz respeito à acidez total, o tratamento com enzima foi igual ao padrão (E e P), porém diferente da cerveja comercial (C), valores que por sua vez se situam acima dos esperados para amostras de cerveja de 0,09 a 0,15% para cervejas do tipo APA (Compton, 1978). Estudos realizados com cervejas do estilo *Pale Ale*, indicam uma variação de acidez titulável entre 25 a 39 meq/L em cervejas comerciais (Vargas, 2018) e, em trabalho desenvolvido por Ferreira e Benka (2015) os valores encontrados de acidez total em cerveja artesanal variaram de 28,97 meq/L a 41,52 meq/L. Esta

variação nos valores de acidez total entre as amostras estudadas pode ser explicada pela presença de alguns ácidos contidos no mosto e estes por sua vez variaram em função dos diferentes tipos de matéria-prima utilizada (Venturini, 2005; Vilela *et al.* 2022).

O pH apresentou o maior valor para o tratamento com enzima ( $E = 4,21 \pm 0,012$ ) que diferiu dos demais, porém todos estão dentro do limite da faixa de 3,8 a 4,7 encontrada na literatura (Compton, 1978). O menor valor de pH foi no tratamento comercial ( $C = 3,90 \pm 0,015$ ). Valores mais baixos de pH diminuem as chances de contaminação por microrganismos e retardam a autólise de leveduras (Oliveira, 2015). O pH tem grande importância na cerveja, pois influencia também em vários fatores, como crescimento microbiano, intensidade de cor, atividade enzimática, potencial de oxirredução e sabor (Oliveira, 2011). Em estudos de cervejas do estilo APA, Costantin (2022) encontrou valores de pH variando entre 4,3 e 4,35, sendo valores superiores aos encontrados neste trabalho.

Quanto à cor das cervejas, o tratamento padrão (P) apresentou a maior média, mas não diferiu do tratamento com enzima (E), entretanto ambos diferiram da média obtida para a cerveja comercial (C). Somente a cerveja comercial ( $14,71 \text{ EBC} \pm 0,40$ ) apresentou valores dentro dos limites estabelecidos para coloração pelo BJCP (2021), que indica que as cervejas do estilo *American Pale Ale* apresentam uma cor que varia do dourado a âmbar claro, sendo compreendida entre 10 e 20 EBC. Os tratamentos com enzima ( $32,33 \text{ EBC} \pm 0,77$ ) e padrão ( $33,21 \text{ EBC} \pm 2,05$ ) tiveram valores superiores estimados para cervejas APA que variam de 9 – 19 EBC segundo outras literaturas (Hughes, 2001; Sparrow, 2005; Dietler, 2006; Alworth, 2015; Morado, 2017).

A cor tem relação direta com os tipos de malte utilizados na produção da cerveja, neste caso o malte Pilsen, que é germinado com temperatura de torra mantida abaixo de 85°C, proporcionando a produção de cervejas mais claras, enquanto os maltes Munich e Cara Ruby, também utilizados na produção das cervejas deste trabalho, apresentam altos teores de proteínas, germinação prolongada em temperaturas inferiores a 85°C, na torra é finalizado em temperaturas superiores a 100°C, assim utilizado para produção de cervejas geralmente mais escuras (Bamforth; Cook, 2016).

Com relação a turbidez analisada, as cervejas processadas neste trabalho (E e P) não apresentaram diferenças estatísticas entre si, sendo que ambas ficaram menos turvas que a cerveja comercial. Os valores que foram encontrados para turbidez corroboram aos encontrados por Oliveira (2016) para cervejas do estilo APA e determinados pela mesma metodologia (variando de  $0,05 \text{ NTU} \pm 0,01$  a  $0,08 \text{ NTU} \pm 0,01$ ), com exceção da cerveja comercial (C) que apresentou valor médio mais elevado. Fanari *et al.* (2018), encontraram um comportamento semelhante quanto ao aumento da turbidez, embora sem diferenças significativas, para cervejas do tipo IPA quando tratadas com enzimas provenientes de *Aspergillus niger* em comparação com cervejas sem tratamento e tratadas com sílica.

Segundo Lopez e Edens (2005) quando se produz cervejas com adição de enzimas a base de *Aspergillus niger*, estas deveriam apresentar valores menores de turbidez que os de cervejas sem enzimas. Estes microrganismos promovem o controle da formação de neblina/turbidez, devido ao fato que a enzima por eles produzida hidrolisa as prolinas, tornando estas incapazes de se ligar aos polifenóis e criar turbidez. Entretanto, por enzimas serem proteínas, estas contabilizam um aumento no valor total proteico das cervejas que são tratadas por estas e que não passam por processo de filtração posterior a sua adição.

Além do valor nutricional, os teores de proteínas são muito importantes no fornecimento de aminoácidos que auxiliam no crescimento das leveduras e têm substâncias nitrogenadas que desenvolvem um papel importante na formação da espuma (Oliveira, 2015). Entretanto, podem ter



efeitos indesejados, uma vez que teores elevados de proteína podem influenciar na turbidez, efeito esse demonstrado neste estudo, onde o tratamento com as maiores médias de turbidez e cor (E-com enzima) foi o que apresentou os maiores teores de proteína. Zupardo (2010) destaca que o excesso de proteínas é indesejado uma vez que dificulta as etapas de filtração, influenciam diretamente na turbidez da cerveja e diminuem o tempo de prateleira deste produto.

As quantidades de proteínas presentes nas cervejas foram maiores para o tratamento com enzima (E), seguido do tratamento padrão (P) e com menor média a cerveja comercial (C), que passa por processo de filtragem industrial, todos diferindo estatisticamente. Segundo Anderson *et al.* (2019) a proteína das cervejas se origina do malte que contém de 10 a 12% de proteína. Um terço dessa proteína é extraído durante a mostura e uma parcela desta é removida durante o processo de fervura, deixando a cerveja com uma média de 0,2 a 0,6 g/100 mL de material derivado de proteína, principalmente na forma de peptídeos e polipeptídeos (Cortacero-Ramírez *et al.*, 2003).

O tratamento comercial apresentou valores abaixo, enquanto os tratamentos com enzima e padrão valores acima dos que os encontrados por Oliveira (2016) para o mesmo método e estilo de cerveja (1,77 %  $\pm$ 0,03 a 1,98 %  $\pm$ 0,03). Lembrando que os valores de proteína sofrem variações de acordo com o processo de preparação e o estilo da cerveja (Gorinstein *et al.*, 1999). Além disso, dados da literatura sugerem que o uso de enzimas aumenta o teor de aminoácidos livres no mosto (Lei *et al.*, 2013).

As proteínas sensíveis à ação da enzima proveniente do *Aspergillus niger*, testada neste experimento, são causadoras de turbidez e estão contidas na fração de hordeína do grão da cevada, assim esta enzima tem essencialmente uma aplicação dupla ao quebrar os pontos tóxicos do glúten, tornando-os não reativos para o organismo dos consumidores (Stepniak *et al.*, 2006). Com isso, esperava-se uma redução nos parâmetros relativos ao teor protéico e à turbidez, fato que não pode ser observado neste trabalho, porque a cerveja artesanal produzida não passou pelo processo de filtração, como ocorre industrialmente. Assim, as partículas de proteínas e nitrogênio complexadas permaneceram presente nas amostras, fazendo com o que tratamento com enzima (E), apresentasse valores médios maiores que os demais tratamentos estudados.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao término deste trabalho concluiu-se que existem diferenças nos parâmetros físico-químicos de cervejas produzidas com a enzima proveniente do *Aspergillus niger*, sem enzimas e comercial, mas não se pode afirmar que o teor de glúten do teste com enzima foi reduzido. Ainda, no que diz respeito ao glúten precisa-se de metodologias padronizadas, mais fáceis e baratas para que possamos ter mais trabalhos neste âmbito, assim alcançando discussões mais robustas.

## REFERÊNCIAS

AHN, J.; GRÜN; I. U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiology**, v. 24, p. 7-14, 2007. DOI: 10.1016/j.fm.2006.04.006

ALWORTH, J. **The Beer Bible**. 1. Ed. New York: Workman Publishing Co., 2015.

ANDERSON, H. E.; SANTOS, I. C., HILDENBRAND, Z. L.; SCHUG, K. A. A review of the analytical methods used for beer ingredients and finished product analysis and quality control. **Analytica Chimica Acta**, v. 1085, p. 1-20, 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2015. **Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 26, de 2 de julho de 2015**. Dispõe sobre os requisitos para rotulagem obrigatória dos principais alimentos que causam alergias alimentares. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-26-de-2-de-julho-de-2015.pdf/view>, Acesso em: 2 mar. 2023.

ARAÚJO, H. M. C.; ARAÚJO, W. M. C.; BOTELHO, R. B. A.; ZANDONADI, R. P. Doença Celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 467-474, 2010.

BAMFORTH, C. W. (org.). **Brewing Materials and Processes**. [S. l.]: Elsevier, 2016.

BJCP. Beer Judge Certification Program. **Beer Style Guidelines**. [2021]. Disponível em: [https://www.bjcp.org/wp-content/uploads/2025/02/2021\\_Guidelines\\_Beer\\_1.25.pdf](https://www.bjcp.org/wp-content/uploads/2025/02/2021_Guidelines_Beer_1.25.pdf). Acesso em: 2 mar. 2023.

BRASIL. **Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003**. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/2003/l10.674.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/l10.674.htm). 2 mar. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário da cerveja: 2019** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA/SDA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/publicacoes/anuario-da-cerveja-2019>, Acesso em: 30 jan. 2023.

BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 65, DE 10 DE DEZEMBRO DE 2019**. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: 20 fev. 2021.

CELA, N. *et al.* Gluten-Free Brewing: issues and perspectives. **Fermentation**, v. 6, n. 2, p. 1-26, 2020.

CODEX ALIMENTARIUS. **Report of the 31th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary**. [2008]. Disponível em: [http://www.fao.org/input/download/report/732/nf31\\_01e.pdf](http://www.fao.org/input/download/report/732/nf31_01e.pdf). Acesso em: 5 mar. 2021.

COMPTON, J. Beer quality and taste methodology. *In*: BRODERICK, H. M. (ed.). **The practical brewer: a manual for the brewing industry**. 2. ed. Madison: MBAA, 1798. p. 288-308.

CORTACERO-RAMÍREZ, S.; HERNAINZ-BERMÚDEZ DE CASTRO. M.; SEGURA-CARRETERO, A.; CRUCES-BLANCO, C.; FERNANDEZ-GUTIERREZ, A. Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 440-455, 2003. DOI: 10.1016/S0165-9936(03)00704-0

COSTANTIN, F. A. B. **Produção e caracterização de cerveja artesanal estilo american pale ale adicionada de zimbro (*Juniperus communis*)**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) — Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2019. Disponível em: <https://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/3745/1/Francini%20Aparecida%20Barreto%20Costantin.pdf>, Acesso em: 20 set. 2023.

CRAIG, H.; VAN ROON, J. Clarity assured—using a proline specific protease to prevent chill haze. **Brewing and Distilling International**, v. 3, p. 35-38, 2007.

DALE, C. J.; TRAN, H. T. N; LYDDIATT, A. Studies on the mechanism of action of copper fining agents (k carrageenan). **Journal of the Institute of Brewing**, v. 102, p. 285-289, 1995.

DI GHIONNO, L.; MARCONI, O.; SILEONI, V.; DE FRANCESCO, G.; PERRETTI, G. Brewing with prolyl endopeptidase from *Aspergillus niger*: The impact of enzymatic treatment on gluten levels, quality attributes and sensory profile. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 1367-1374, 2017.

DIETLER, M. Alcohol: Anthropological/ Archaeological Perspectives. **Annual Review of Anthropology**, v. 35, p. 229-294, 2006.

EBC - EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica – EBC**. 5. ed. Zúrique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 2005.

FANARI, M.; FORTESCHI, M.; SANNA, M.; ZINELLU, M.; PORCU, M. C.; PRETTI, L. Comparison of enzymatic and precipitation treatments for gluten-free craft beers production, **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 49, p. 76-81, 2018.

FERREIRA, A. S.; BENKA, C. L. **Produção de cerveja artesanal a partir de malte germinado pelo método convencional e tempo reduzido de germinação**. 2014. 42p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2014.

GORINSTEIN, S.; ZEMSER, M.; VARGAS-ALBORES, F.; OCHOA, J. L.; PAREDES-LOPEZ, O.; SCHELER, C. H.; SALNIKOW, J.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S. Proteins and amino acids in beers, their contents and relationships with other analytical data, **Food Chemistry**, v. 67, p. 71-78, 1999.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of Biological Chemistry**, v. 177, p. 751-66, 1949.

HOELZ, I. S.; AZEVEDO, R. S. **Análise teórico-experimental de processos de fermentação para produção de cerveja**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) — Universidade Federal, Niterói, 2019. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/10490/TCC%20Isabela%20Raul.pdf?sequence=1>. Acesso em: 20 set. 2023.

HUGHES, E. D. B. P. S. **Beer: quality, Safety and nutritional aspects**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2001.

LEI, H.; ZHENG, L.; WANG, C.; ZHAO, H.; ZHAO, M. Effects of worts treated with proteases on the assimilation of free amino acids and fermentation performance of lager yeast, **International Journal of Food Microbiology**, v. 161, p. 76-83, 2013.

LIMA, L, A. *et al.* Sinopse do cenário cervejeiro: o advento da produção e o mercado na região centro oeste. **Cadernos de Prospecção**, v. 10, n. 4, p. 650-664, 2017.

LOPEZ, M; EDENS, L. Effective prevention of chill-haze in beer using an acid proline-specific endoprotease from *Aspergillus niger*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 7944–7949, 2005.

LOWENTHAL, J. Uber die Bestimmung des Gerbstoffs. **Zeitschrift für analytische Chemie**, v. 16 p. 3-48, 1877.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; **Ministério cria câmara setorial para a cadeia produtiva da cerveja**. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/ministerio-cria-camara-setorial-para-a-cadeia-produtiva-da-cerveja>. Acesso em: 10 mar. 2023.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Total de cervejarias registradas no Mapa cresceu 36% em 2019 e chegou a 1.209**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/total-de-cervejarias-registradas-no-mapa-cresceu-36-em-2019-e-chegou-a-1.209>. Acesso em: 10 mar. 2023.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. G.; Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, p. 571-577, 2005.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. 1. ed. São Paulo: Alaúde Editorial, 2017.

OLIVEIRA, M. D. **Aplicação de amido modificado no processo de clarificação de cerveja artesanal**. 2015. Dissertação (Mestrado) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2015. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2165/1/MD\\_PPGTA\\_M\\_Oliveira\\_Mariana%20D%3%A2maris%20de\\_2015.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2165/1/MD_PPGTA_M_Oliveira_Mariana%20D%3%A2maris%20de_2015.pdf). Acesso em: 25 jan. 2023.

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. Monografia (Especialização em Microbiologia Ambiental e Industrial) — Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

OLIVEIRA, T. **Avaliação do comportamento de amidos de batata oxidados e utilizados como clarificantes na produção de cerveja artesanal**. 71 f. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) — Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2016. Disponível em: [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/6008/1/CM\\_COEAL\\_2016\\_2\\_15.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/6008/1/CM_COEAL_2016_2_15.pdf), Acesso em: 20 abr. 2023.

SCHERF, K.A. Gluten-free diet – health trend or vital necessity? **Cereal Technology**, v. 2, p. 64-73, 2015.

SCHERF, K.A., KOEHLER P., WIESER H. Gluten and wheat sensitivities – An overview. **Journal of Cereal Science**, v. 67, p. 2-11, 2016.

SIDOOSKI, T. **Processo de produção de cerveja puro malte do tipo Pale Ale**. 2011. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Engenharia Química) — Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2011.

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

SPARROW, J. **Wild brews: beer beyond the influence of brewer's yeast**. Boulder: Brewers Publications, 2005.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA** (Data analysis software system). Version 7. [2004]. Disponível em: [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). Acesso em: 20 abr. 2023.

STEPNIAK *et al.* Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. **American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 291, p. 621-629, 2006.

VARGAS, B. O. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante de cervejas tipo ale (IPA)**. 2014. 42p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) — Universidade Federal de Uberlândia, Pato de Minas, 2018.

VENTURINI, W. G. Cerveja. In: BLÜCHER, E. (org.). **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Editora Blücher, 2005. cap. 15.

VILELA, A.F.; OLIVEIRA, M.S.; SANTOS, M. S. A.; VERÍSSIMO, R. R.; MANGOLIM, C. S.; SILVA, F. F. F.; SANTOS, D. S. Parâmetros fermentativos, análise físico-química e sensorial de cerveja adicionada de mel de abelha. In: FIGUEIREDO, Maria José de *et al.* (org.) **Inovações em ciência e tecnologia de alimentos - VIII ENAG E CITAG**. Bananeiras, PB: Agron Food Academy, 2022. cap. 34. <https://doi.org/10.53934/9786585062046-34>.

VAN ZANDYCKE, S. **Não contem glúten**: uma necessidade para as pessoas intolerantes ao glúten, esse produto, torna-se mais uma opção para os fabricantes de cerveja. engarrafador moderno. 2014. Disponível em: [https://engarrafadormoderno.com.br/processos/nao-contemgluten#:~:text=medi%3%a7%3%a3o%20de%20gl%3%baten%20na%20cerveja&text=a%20in-gest%3%a3o%20de%20gl%3%baten%20m%3%a1xima,\(codex%20alimentarius%20commission%202008\)](https://engarrafadormoderno.com.br/processos/nao-contemgluten#:~:text=medi%3%a7%3%a3o%20de%20gl%3%baten%20na%20cerveja&text=a%20in-gest%3%a3o%20de%20gl%3%baten%20m%3%a1xima,(codex%20alimentarius%20commission%202008)). Acesso em: 25 mar. 2023.

WATSON, H.G.; VANDERPUTTEN, D.; VAN LANDSCHOOT, A.; DECLOEDT, A. L. Applicability of different brewhouse technologies and gluten-minimization treatments for the production of gluten-free (barley) malt beers: Pilot-to industrial-scale. **Journal of Food Engineering**, v. 245, p. 33-42, 2019. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2018.09.015.

WIESER, H., KOEHLER, P., KONITER K. **Celiac Disease**: a Complex Disorder, in Disease and Gluten - Multidisciplinary Challenges and Opportunities. 1. ed. London: Academic Press Elsevier, 2014.

ZUPPARDO, B. **Uso da goma Oenogum para a estabilização coloidal e de espuma em cerveja**. 2010. Dissertação (Mestrado) — Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.