

Aplicação de extrato enzimático de abacaxi em cerveja artesanal do tipo Pilsen

Priscilla Zwiercheczewski de Oliveira (UFPR) priscilla.zwiercheczewski@ufpr.br

Walnisa Leoncio (UEPG) walnisaleoncio@yahoo.com.br

Maria Helene Giovanetti Canteri (UTFPR) canteri.mhg@gmail.com

José Luiz Ferreira da Trindade (UTFPR) joseftri@hotmail.com

Resumo

A cerveja é definida, segundo o Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como a bebida obtida pela fermentação do malte da cevada e água potável, por ação de levedura, com a adição de lúpulo. Na cerveja artesanal, não há a etapa de clarificação, ocorrendo formação de sedimentos que a torna turva, considerada por alguns consumidores como um defeito. Os objetivos deste trabalho foram produzir um extrato enzimático a partir da crioconcentração do suco de abacaxi e testar o seu potencial como um agente clarificante em cerveja artesanal do tipo *Pilsen*, na fase de maturação. Foram adicionados 100, 200 e 300 µL do extrato em 20 mL da cerveja. Em seguida, foram realizados testes de hidrólise proteica com 200 µL do extrato enzimático em 30 mL de gelatina, visualizando a inibição da formação de gel, em faixas de temperatura entre 45 °C a 90 °C e pH entre 2,5 e 8,5. Observou-se a inativação enzimática nas temperaturas de 80 °C e 90 °C e não foi observada influência da variação de pH do extrato enzimático sobre o processo de gelificação. Na cerveja, foram realizadas as análises de cor e extrato seco, com resultado positivo quanto à clarificação e redução dos sedimentos.

Palavras chave: Cerveja Artesanal, Extrato Enzimático, Abacaxi, Hidrólise Proteica

Application of enzymatic extract of pineapple in Pilsen craft beer

Abstract

According to Brazilian law, beer is defined as the beverage obtained by the fermentation of barley malt and potable water, by yeast action, with the addition of hops. In craft beer there is no clarification step, verifying the sediments formation that becomes blurred, and, some consumers consider it as a beer defect. The objective was the production of an enzymatic extract from the cryoconcentration of pineapple juice and test its potential as a clarifying agent in craft beer *Pilsen*, in the maturation phase with the application of 100, 200 and 300 µL of the extract in 20 mL of beer. Therefore, protein hydrolysis tests were performed with 200 µL of enzymatic extract in 30 mL of gelatin, visualizing the inhibition of gel formation or not, in temperature ranges between 45 °C and 90 °C and pH ranges between 2,5 and 8,5. As a result, it was observed enzymatic inactivation at temperatures of 80 °C and 90 °C; the absence of influence of the pH variation of the enzymatic extract on the process of gel formation; and the test with the beer, were performed a color analysis in bench spectrophotometer and dry extract, with a positive result for the clarification and reduction of sediment.

Key-words: Craft Beer, Enzymatic Extract, Pineapple, Protein Hydrolysis

1. Introdução

A cerveja é uma solução aquosa complexa contendo CO₂, etanol, diversos sais inorgânicos e cerca de 800 compostos orgânicos (REVISTA ANALYTICA, 2007), sendo definida, segundo o Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como “a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo. Parte do malte de cevada poderá ser substituído por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não poderá ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo. A cerveja deverá ser estabilizada biologicamente por processo físico apropriado, podendo ser denominada de Chope ou Chopp a cerveja não submetida ao processo de pasteurização para o envase” (BRASIL, 2009).

A cor é a definição de um parâmetro visual; o Standard Reference Method (SRM) detecta a absorbância da amostra numa célula de 0,5 polegadas, usando um feixe monocromático de 430 nm, comprimento de onda em que as cervejas apresentam uma maior diferença entre elas. O valor de absorbância é multiplicado por dez, tornando a escala SRM equivalente à escala de Lovibond, composta por um conjunto bem definido de amostras coloridas, usadas por comparação com a amostra a ser classificada, atribuindo o respectivo grau Lovibond (LAZZARI, *et al*, 2009).

Cor	Estilo	SRM	
Água	-	0	
Amarelo-palha	Lite American Lager, Berliner Weisse	2 - 3	
Amarelo-palha	German Pilsner	3 - 4	
Dourado	Dortmunder Export	5 - 6	
Âmbar	Maibock / Helles Bock	6 - 9	
Cobre-claro	California Common Beer	10 - 14	
Cobre-claro	Dusseldorf Altbier, Roggenbier	14 - 17	
Marrom-claro	Roggenbier	17 - 18	
Marrom-claro	Southern English Brown Ale	19 - 22	
Marrom-escuro	Robust Porter, Oatmeal Stout	22 - 30	
Marrom muito escuro	Sweet Stout	30 - 35	
Preto	Foreign Extra Stout	35 +	
Preto opaco	Russian Imperial Stout	40 +	

Figura 1 – Classificação SRM com as diferentes colorações aos respectivos tipos de cerveja

Fonte: Adaptado de BJCP GUIDELINE (2008)

No Diagrama 1 estão esquematizadas as etapas para produção de cerveja. Deve-se

ressaltar que, a clarificação e pasteurização são operações não realizadas durante a produção de cerveja artesanal.

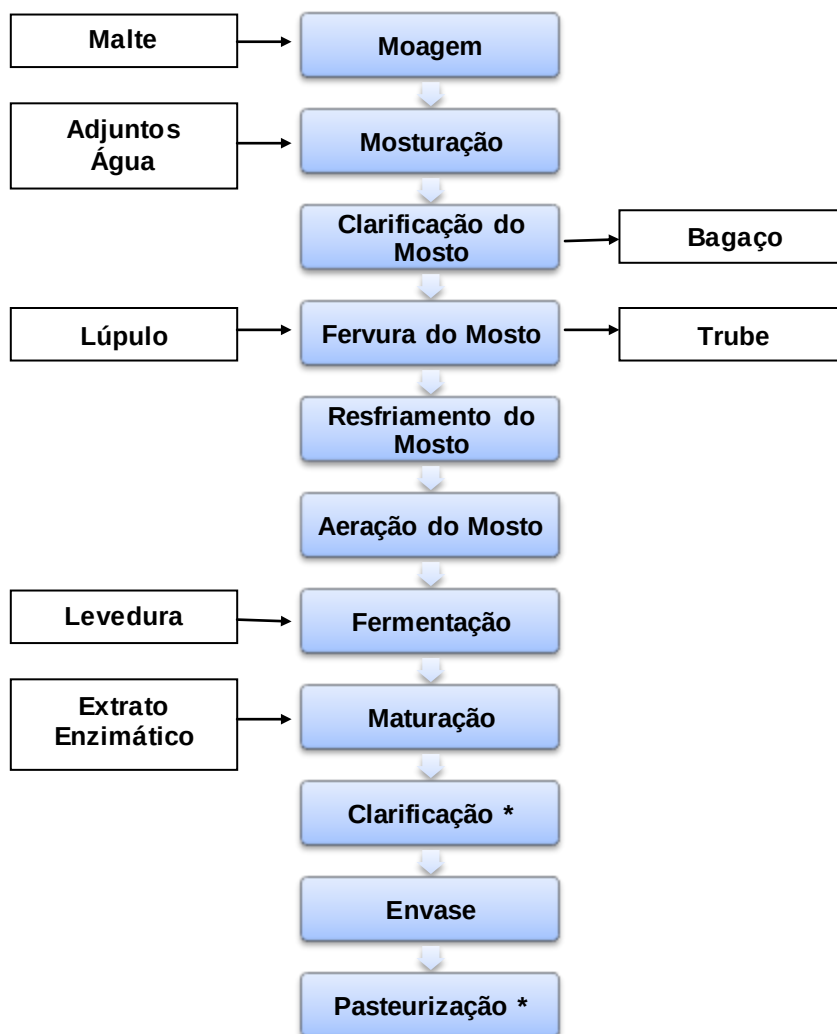


Diagrama 1 – Etapas do processamento da cerveja
Fonte: Adaptado de Pastore *et al.* (2013)

O processo se inicia pela moagem do malte que permanece armazenado em silos até moagem por esmagamento entre rolos. É de grande importância que a moagem não chegue ao ponto de prejudicar os grãos e cascas, pois tem o objetivo de facilitar a hidrólise do amido; a integridade das cascas deve ser mantida por formar a camada filtrante da cerveja (OETTERER, 2014).

Na mosturação, o malte moído em contato com a água desencadeia as reações de hidrólise do amido até açúcares fermentescíveis - maltose, maltotrioses e glicose – onde a interação das variáveis de pH e temperatura ocorre com a finalidade de controle da degradação do amido e das proteínas, se necessário, a adição de adjuntos é permitida (JUNIOR *et al.*, 2009).

Com o objetivo de uma clarificação primária, o bagaço (partículas insolúveis do malte) e o mosto são transferidos para uma tina de clarificação para a separação das frações, interessando apenas o mosto, levado para a fervura juntamente com o lúpulo (CARVALHO & ZAMBIASI, 2011). Devido à alta temperatura durante a fervura, ocorrem inativações enzimáticas e também a esterilização do mosto lupulado; compostos aromáticos são liberados, característicos pela cor e sabor do produto final, através das reações bioquímicas de

caramelização e de Maillard. Compostos indesejáveis como o dimetil sulfeto, e o “trube” são removidos ainda durante a etapa de fervura por evaporação (SIQUEIRA *et al*, 2008). O resfriamento deve ser realizado com o auxílio de uma serpentina para deixar a temperatura próxima para o início da fermentação, sendo a aeração um procedimento essencial para concentrar o oxigênio dissolvido no mosto (PASTORE *et al*, 2013).

A fermentação inicia com a adição do inóculo de levedura previamente preparado. Na primeira fase, ocorre um acúmulo de biomassa pela decomposição da glicose em CO₂ e água sem produção de álcool, caracterizando um processo aeróbio. Na segunda fase é necessário o controle da temperatura para que não ultrapasse 37 °C e inativar a enzima álcool desidrogenase, que atua na redução do piruvato proveniente da decomposição da glicose com produção de álcool, caracterizando uma fermentação anaeróbia. Ao término da fermentação é possível remover as células que floculam na superfície para posterior reutilização (LAZZARI *et al*, 2009).

Na etapa de maturação há precipitação de biomassa decorrente de uma fermentação complementar, ainda ocorre de forma lenta, modificando o sistema coloidal, e também são formados ésteres, compostos que alteram o sabor e o aroma indicando uma cerveja maturada (JUNIOR *et al*, 2009). Para o envase, as indústrias cervejeiras utilizam o processo de pasteurização com o objetivo de estabilidade e prolongamento da vida de prateleira do produto, sendo as latas e garrafas com validade de aproximadamente 6 meses e aproximadamente 1 mês de validade para cervejas armazenadas em barris (PASTORE *et al*, 2013).

Os defeitos na cerveja podem ser consequência de atividade microbiana, pela contaminação de matérias primas ou equipamentos, instabilidade das proteínas, excesso de amido pela moagem inadequada dos grãos e falhas no processo. A turbidez é o defeito mais comum em função da sedimentação dos sólidos no decorrer do tempo, gerando um depósito visível principalmente em garrafas (OETTERER *et al*, 2006). Cruz *et al*. (2008) citam dois fatores principais que interferem na produção de uma boa cerveja: uso de matérias primas de má qualidade, que alteram a estabilidade da suspensão coloidal, principalmente do complexo proteína-tanino resultante de ligações entre as hidroxilas do grupo fenólico dos taninos com proteínas e a contaminação por microrganismos, decorrente de manipulação e armazenamento inadequados, sem a pasteurização. Os taninos atuam na estabilidade e formação da espuma e na adstringência e amargor da cerveja, que em excesso pode ser repulsivo ao paladar (BATTESTIN *et al*, 2004).

O diferencial da cerveja artesanal está na valorização da qualidade sensorial com volumes de produção menores. Os variados tipos de cerveja são obtidos a partir de ingredientes de alta qualidade, sem o uso de antioxidantes e estabilizantes. A ascensão das microcervejarias, atualmente, é decorrente do descontentamento do consumidor em relação às líderes do mercado cervejeiro, com o aumento dos preços e a substituição de uma parcela do malte por matéria-prima de qualidade inferior. Também, do aumento do poder aquisitivo da população que procura o consumo de produtos diferenciados, sendo justamente esse consumidor que as microcervejarias querem atingir, além daquele que preza pelas características sensoriais específicas da cerveja: cor, sabor, aromas, teor alcoólico, amargor, sabor residual, entre outras. A atração do consumidor da cerveja artesanal deve ser pensada desde ações de marketing ao uso de ingredientes nacionais, harmonizações dos vários tipos de cerveja com pratos específicos e os seus benefícios à saúde. Em 2013, estimava-se no Brasil que existiam cerca de 200 microcervejarias, representando apenas 0,15% do mercado total de cervejas, podendo alcançar 2% do mercado total nos próximos 10 anos (SEBRAE, 2014; MATOS, 2011).

O abacaxi é uma planta pertencente à família *Bromeliaceae*, com o fruto (sincarpo ou sorose) formado pela coalescência dos frutos individuais sobre um eixo central em forma de espiral (CRESTANI *et al*, 2010; CEAGESP, 2014). Esse fruto é composto por água, proteína, açúcares, lipídios, glicídios, celulose, sais, além de quantidades consideráveis de potássio, ferro, cálcio, manganês e magnésio, dos resíduos da industrialização do abacaxi, pode-se destacar uma substância chamada bromelina (CRESTANI *et al*, 2010; MANETTI, 2009). O abacaxi é a principal fonte da enzima proteolítica bromelina (EC 3.4.22.4), cujo volume de produção não acompanha às necessidades do mercado, o que a torna um produto de custo elevado por ser adquirida de outros países. Naturalmente é encontrada no caule, folhas, raízes e no fruto (FRANÇA-SANTOS *et al*, 2009).

Ferreira *et al* (2011) citam que a bromelina é instável e frequentemente é desativada de forma espontânea devido à ação de agentes interferentes como pH e temperatura, com pH ótimo entre 6,5 – 7,5 e temperatura ótima de 37 °C, condição na qual as soluções concentradas de bromelina são mais resistentes à espontânea inativação da atividade proteolítica. Dessa forma, faz-se necessária a concentração do suco do abacaxi para manter a atividade da bromelina, padronizar sua composição e atividade proteolítica. Além de sua utilização no ramo cervejeiro, a bromelina tem aplicações diversas; em alimentos, suplementação alimentar, cosméticos e na medicina; conforme Elias *et al* (2011). Na indústria de alimentos pode ser utilizada para hidrolisar a miosina, produzindo efeito de amaciamento da carne (OLIVEIRA, 2001). Na medicina, pode ser de interesse para os cirurgiões plásticos pela sua capacidade de reduzir dor, edema e inflamação, além de potencializar antibióticos, o que pode ser benéfico no pós-operatório (ORSINI, 2006). A bromelina do abacaxi serve como auxiliar digestivo na quebra de proteínas (ROXAS, 2008).

O objetivo geral deste trabalho foi obter extrato enzimático de abacaxi a partir da crioconcentração do suco do fruto para aplicação em cerveja artesanal do tipo *Pilsen*, visando facilitar a filtração e clarificação do produto final.

2. Material e Métodos

A cerveja utilizada para a aplicação do extrato enzimático foi doada pelo Projeto Tecnológico de Cerveja Artesanal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa. As demais matérias-primas foram adquiridas no comércio local do município de Ponta Grossa – PR e transportadas ao Laboratório de Bioquímica da UTFPR, para elaboração do produto. O trabalho prático foi desenvolvido entre Agosto e Dezembro de 2014. Foi utilizada uma amostra do fruto da variedade Pérola, no ponto de coloração verde do estágio de maturação, obtido em supermercado local, para a obtenção do extrato enzimático.

O suco de abacaxi foi submetido ao processo de crioconcentração. Para tanto, foi acondicionado em bandeja de plástico, envolvido por placas de isopor e levado ao freezer da marca Consul a -11 °C por 12 horas ou até congelamento completo. Posteriormente, a amostra foi levemente triturada com espátula, acomodada em toucas duplas de tecido sintético e levada à centrifugação em centrífuga Consul. O suco foi coletado, sendo efetuada a leitura de sólidos solúveis da amostra em refratômetro manual RR12 da marca Polskie Zakłady Optyczne. Esse suco foi novamente submetido a mais quatro repetições do processo de congelamento e centrifugação. O extrato foi acondicionado em tubo tipo Falcon com tampa, sendo considerado o extrato concentrado de abacaxi.

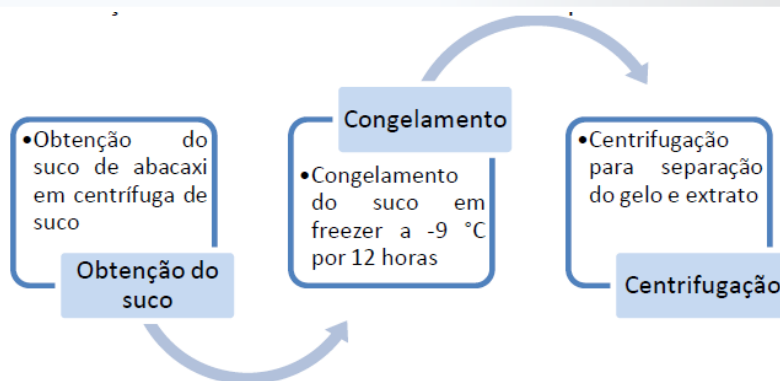


Figura 1 - Produção do extrato enzimático de abacaxi por crioconcentração
Fonte: Autoria própria (2014)

O delineamento utilizado para realização dos testes com o extrato enzimático produzido está apresentado na Tabela 1.

Testes	Método
1. Pré-teste de hidrólise da proteína	Adição de 200 μL de extrato enzimático a 30 mL de preparado de gelatina
2. Inibição enzimática em função da temperatura	Adição de 200 μL de extrato enzimático a 30 mL de preparado de gelatina em temperaturas variadas (45°C , 60°C , 70°C , 80°C e 90°C)
3. Influência do pH sobre a ação enzimática	Adição de 200 μL de extrato enzimático a 30 mL de preparado de gelatina em diversos pH (2,5; 3,5; 4,5; 6,5; 7,5 e 8,5), todas a temperatura de 45°C
4. Aplicação do extrato crioconcentrado em cerveja artesanal	Adição de 100 μL , 200 μL e 300 μL de extrato em 20 mL de cerveja. Início em 10/11/2014
5. Análise de cor	Realizada para a fração líquida das amostras, em espectrofotômetro de bancada HunterLab modelo UltraScan Pro, seguiu-se a metodologia utilizada por Fernandes <i>et al</i> (2010), com adaptação para cerveja artesanal

Tabela 1 - Métodos utilizados para caracterização da hidrólise proteica de extrato enzimático de abacaxi produzido em bancada (UTFPR- Campus de Ponta Grossa)
Fonte: Autoria própria (2014)

Para a realização do pré-teste de hidrólise da proteína, utilizou-se gelatina comestível da marca Apti, sem cor e sem sabor. Preparou-se a gelatina por meio da adição de 35 mL de água destilada a 10 g de gelatina, sendo a mistura submetida à temperatura de 45°C até completa diluição. A gelatina preparada foi dividida em dois tubos Falcon contendo aproximadamente 20 mL cada, com identificação B1 controle e B2 extrato. Ao tubo B2, foram adicionados 200 μL do extrato enzimático sob agitação manual. Os tubos B1 e B2 foram refrigerados em refrigerador Consul, durante o período de 60 minutos. Após, foram comparados em relação à persistência da gelificação, por meio de análise visual.

Para o teste de inibição da ação enzimática em função da temperatura, utilizou-se gelatina comestível da marca Dr. Oetker, sem cor e sem sabor. A gelatina foi preparada pela adição de 200 mL de água destilada a temperatura de 45°C a 23,94 g de gelatina, seguido de agitação manual até total diluição. A gelatina preparada foi dividida em seis tubos, com aproximadamente 30 mL cada, identificados como: controle 45°C , controle 90°C (sem a adição da enzima), 60°C , 70°C , 80°C e 90°C . Em seguida, todos os tubos foram levados ao banho-maria na temperatura desejada para cada ensaio. Ao se atingir a temperatura indicada em cada tubo, cada qual recebeu 200 μL do extrato enzimático crioconcentrado, sob agitação manual com exceção do tubo controle 90°C . Cada tubo foi mantido durante o tempo de 10 minutos na temperatura do teste. Os tubos foram levados à refrigeração em refrigerador Consul a 9°C durante o período de 60 minutos. Em seguida, foi realizada a comparação visual dos resultados por meio da presença ou ausência de gelificação.

Para a realização do teste da influência do pH sobre a ação enzimática, seguiu-se o mesmo preparo da gelatina para o teste de inibição da ação enzimática em função da temperatura. A gelatina preparada foi dividida em doze tubos, com aproximadamente 15 mL cada. A faixa de pH estudada foi entre 2,5 e 8,5, com intervalo de uma unidade. Havia um controle, sem adição do extrato enzimático crioconcentrado para cada pH estudado. Realizou-se o ajuste do pH das amostras conforme identificação dos tubos, tanto nas amostras controle quanto extrato. Para o ajuste, utilizou-se solução de ácido cítrico para redução do pH e solução de bicarbonato de sódio, para aumento do pH, ambas com concentração de 20%. Foram adicionados 200 µL do extrato enzimático, sob agitação manual, a todos os tubos com prefixo “extrato”. Os tubos foram mantidos sob refrigeração durante o período de 60 minutos a 9 °C. Após, foi realizada a comparação visual dos resultados por meio da gelificação da gelatina.

Na aplicação do extrato em cerveja, foram utilizados 20 mL de cerveja em 4 tubos Falcon, com adição do extrato em concentrações de 100 µL, 200 µL, 300 µL e o tubo controle sem adição do extrato. O tratamento permaneceu a 9 °C sob refrigeração, por 4 semanas na etapa de maturação da cerveja do tipo *Pilsen*. Após, foi realizada a centrifugação em centrífuga Excelsa 4 modelo 280R durante 5 minutos a 2600 RPM. As amostras foram filtradas através de bomba de vácuo EOS-Value modelo Ve260d duplo estágio para a separação do sedimento, em seguida foram levadas a estufa de secagem a 45 °C durante 24 horas e posterior pesagem.

Para a fração líquida das amostras, foi realizada a análise de cor em colorímetro de bancada HunterLab modelo UltraScan Pro. Seguiu-se a metodologia utilizada por Fernandes *et al* (2010), com adaptação para cerveja artesanal, para a determinação dos valores L^* (indica luminosidade), a^* (indica variação de cor do verde até o vermelho) e b^* (indica variação de cor do azul até o amarelo). Com os valores de a^* e b^* calculou-se o ângulo Hue ($^{\circ}h = \tan^{-1}(b^*/a^*)$), que define a tonalidade de cor, e o Chroma ($C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$), que define a intensidade da cor. A coloração da cerveja foi expressa em três atributos: luminosidade (L^*), diferenciando cores claras de escuras, onde o valor de L^* pode ir de zero para cores escuras a 100 para cores claras; ângulo Hue ($^{\circ}h$) indicativo de tonalidade, e Chroma que indica a intensidade de cor (C^*) (MCGUIRE, 1992).

3. Resultados e Discussão

O abacaxi inteiro totalizou 1324 g, após o descascamento manual, resultou em 74,6 % de polpa e 25,4 % de casca. A polpa, após centrifugação, apresentou perda da porção fibrosa, resultando em massa de suco de 56,8% em relação à inicial. Os resultados de rendimento estão apresentados na Tabela 3 referentes a cada etapa de crioconcentração, com respectiva massa, rendimento percentual em relação à massa inicial de suco e teor de sólidos solúveis.

Etapa	Massa final (g)	Rendimento (%)	°Brix
1°	400,09	53,21	14
2°	184,90	24,60	28
3°	133,66	17,77	38
4°	92,30	12,28	47
5°	70,72	9,40	60

Tabela 3 – Rendimento do extrato enzimático produzido por crioconcentração (g) e respectivo teor de sólidos solúveis (°Brix)

Fonte: Autoria própria (2014)

Por meio do processo de crioconcentração, foi possível obter um extrato enzimático mais concentrado, através da redução de água livre presente no suco inicial. Na Figura 4, pode-se observar o extrato final com aspecto xaroposo.



Figura 4 – Extrato enzimático da bromelina

Fonte: Autoria própria (2014)

A massa inicial do suco foi de 752 g sendo reduzida a 71 g após a quinta etapa de crioconcentração, resultando em uma diferença de 681 g. O processo de crioconcentração foi interrompido devido à remoção de toda a água livre presente, concentrando o extrato, com uma visível mudança na viscosidade. Nesta etapa ocorre o descongelamento da solução concentrada, que consegue passar pelo bloco de gelo puro restando o soluto entre os cristais de gelo, tornando-se concentrado devido a pouca quantidade de água disponível (HORVÁTH-KERKAI, 2006; AIDER e HALLEUX, 2009; FENNEMA, 2010; WATANABE, 2013).

Em seu trabalho sobre o estudo de suco de laranja crioconcentrado, Nunes e Amarante (2008) obtiveram um rendimento de 48,54% da extração de suco de laranja e o teor de sólidos solúveis do suco in natura ficou próximo de 9 °Brix. Utilizaram dois tratamentos para a crioconcentração, TI a -80 °C e TII a -30 °C. No TI, o crioconcentrado apresentou 12% de rendimento e 33 °Brix de sólidos solúveis, para o TII o rendimento foi de 17% e 22 °Brix. Concluíram que a temperatura de congelamento afeta significativamente o teor de sólidos solúveis do suco concentrado, mantém o pH constante durante os ciclos de congelamento e reduz a atividade de água do produto. Watanabe (2013) crioconcentrou o suco de yacon de 7 °Brix inicialmente. Após o primeiro ciclo de crioconcentração o teor de sólidos solúveis totais foi de 10,5 °Brix, correspondendo a um aumento de 50%. No segundo ciclo, o teor passou para 14,25 °Brix, um aumento de 35,7%. Após o terceiro ciclo, o teor foi de 18 °Brix, um aumento de 26,3%, e após o quarto ciclo, manteve o teor de 18 °Brix.

Com relação à atividade enzimática, considerava-se resultado positivo quando não havia gelificação completa do produto. Nesse caso, ao se inverter o tubo Falcon observava-se o escoamento (lento ou rápido) da gelatina. Um resultado negativo, sem atividade enzimática, pode ser observado pela imobilidade do gel de gelatina formado. O extrato enzimático obtido apresentou atividade proteolítica, com base nos testes com gelatina. É possível observar visualmente na Figura 5, a atividade proteolítica das enzimas presentes no extrato sobre a gelatina, onde no tubo B1 houve gelificação e no tubo B2 não houve gelificação.

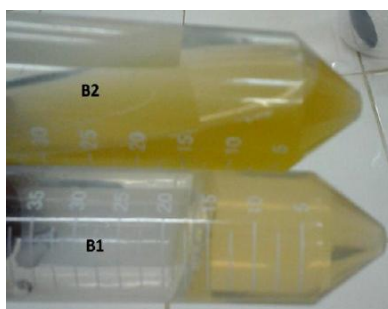


Figura 5 - Aplicação preliminar do crioconcentrado enzimático do abacaxi em preparado de gelatina em B1(controle) e B2 (com extrato)

Fonte: Autoria própria (2014)

O objetivo dos testes com gelatina foi similar aos de Lima *et al.* (2008), indicando a estrutura

de gel formada com a adição de água ao pó de gelatina que ocorre pela ligação por pontes de hidrogênio das moléculas de água às macromoléculas de proteína (colágeno). Se a estrutura estiver danificada, não ocorre a formação de gel. Os autores observaram a ação das enzimas proteolíticas presentes nos sucos de abacaxi e mamão sobre a gelatina, enzimas bromelina e papaína, respectivamente, que provocaram a degradação das macromoléculas da proteína presentes na gelatina, causando assim a perda do processo de gelificação.

Quanto à temperatura de inativação enzimática, as enzimas presentes no extrato sofreram inativação na faixa entre 70 °C e 80 °C. Na Figura 6, observa-se que não houve gelificação nessas faixas de temperatura. Resultado semelhante ao citado por Rowan *et al.* (1990), no qual a atividade proteolítica da bromelina do fruto ocorreu em temperatura de 70 °C e a bromelina do talo apresentou atividade máxima a 60 °C. Araujo *et al.* (2011) observaram a ação enzimática sob temperaturas de 37 °C e 60 °C. A 37 °C não houve formação de gel apresentando atividade enzimática, e a 60 °C houve formação de gel, indicando redução da atividade enzimática e sua possível desnaturação.

Na Figura 6, está apresentada a atividade enzimática frente às diferentes temperaturas.

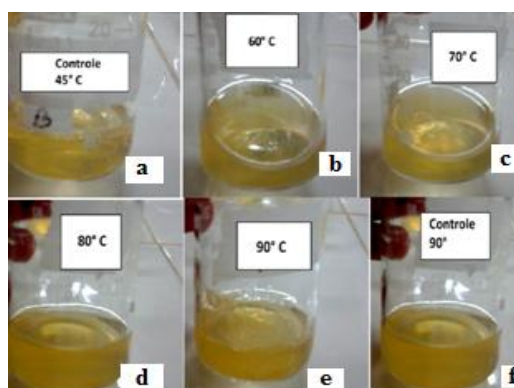
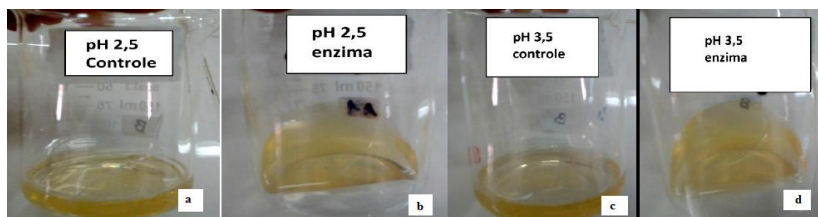


Figura 6 - Atividade enzimática do extrato crioconcentrado de abacaxi sobre a gelatina, em diferentes temperaturas

Legenda: controle; 45 °C; b: 60 °C; c: 70 °; d: 80 °C; e: 90 °C

Fonte: Autoria própria (2014)

A variação do pH não influenciou a hidrólise proteica das enzimas sobre a gelatina. Observa-se na Figura 7, a gelificação da gelatina nos tratamentos controle e a não gelificação nos tratamentos com adição do extrato enzimático.



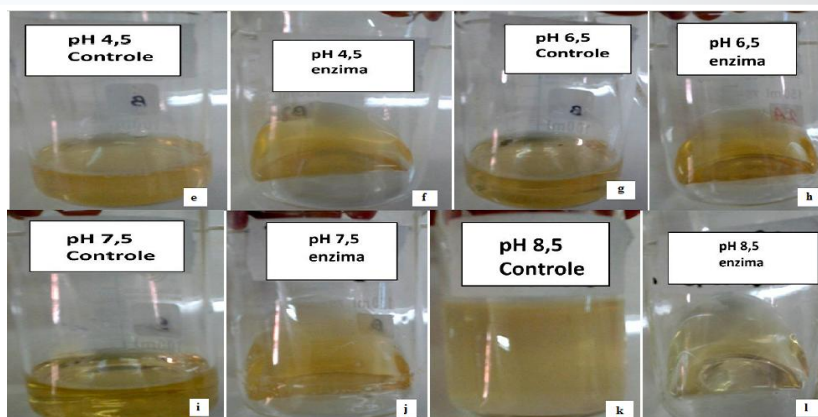


Figura 7 – Influência do pH sobre a atividade do extrato crioconcentrado de abacaxi sobre a gelatina
Legenda: As figuras a, c, e, g, i e k, respectivamente, mostram a gelificação da gelatina nos tratamentos controle.
As figuras b, d, f, h, j e l, respectivamente, mostram a não gelificação dos tratamentos com adição do extrato enzimático.

Fonte: Autoria própria (2014)

França-Santos *et al* (2009) encontraram o pH 5,0 como ponto ótimo de ação da enzima bromelina do suco do abacaxi em tampão acetato de sódio. Encontraram também picos de atividade em pH 7,0 para tampão fosfato de sódio e pH 8,0 para tampão Tris-HCL. Os autores citam que o pH ótimo de atividade é influenciado pela natureza do substrato, concentração e tipo de solução tampão.

Por meio da adição do extrato enzimático de abacaxi na cerveja artesanal em diferentes concentrações, foi possível observar através da análise de cor que não houve variação de luminosidade das mostras, observada pelos valores de L* (Tabela 3). Os resultados da amostra controle e adicionadas de extrato ficaram com valores muito próximos, indicando que a adição do extrato não influenciou negativamente este parâmetro da cor da cerveja.

As amostras permaneceram dentro de tons de amarelo, observadas pelos valores do ângulo Hue que permaneceram entre 120,02 e 142,86, (Tabela 4). Segundo Pereira (2009), o ângulo de cor Hue pode variar de 0° a 360°, sendo que o 0° corresponde à cor vermelha, 90° corresponde ao amarelo, 180° ao verde e 270° ao azul. A vivacidade das cores é expressa pelos valores de Croma, (Tabela 4), onde os valores obtidos indicam tons neutros. Segundo McGuire (1992), a intensidade da cor é definida pelo Croma, com valores próximos de zero para cores neutras como cinza e em torno de 60 para cores mais vividas.

Parâmetro	Controle	100 µL	200 µL	300 µL
L *	27,82	27,83	27,66	27,82
a *	-0,47	-0,61	-0,62	-0,54
b *	0,79	0,65	0,47	0,72
Croma	0,93	0,89	0,78	0,90
Hue	120,02	133,35	142,86	126,93
Sedimento (g)	0,006	0,013	0,013	-

Tabela 4 - Parâmetros de cor da cerveja artesanal após a etapa de maturação e sedimentos presentes nas amostras de cerveja com adição de extrato

Legenda: L* - teores de luminosidade; Croma – intensidade da cor; Hue - tonalidade da cor

Fonte: Autoria própria (2014)

Quanto ao sedimento precipitado pela ação do extrato enzimático de abacaxi sobre a cerveja, Tabela 4, apresentou-se em maior quantidade nas amostras contendo 100 µL e 200 µL de extrato enzimático. Para a amostra contendo 300 µL não foi possível a obtenção de resultado devido a perda de amostra durante a análise.

A aplicação do extrato enzimático em diferentes estádios de maturação da cerveja é uma

sugestão para futuros trabalhos, sendo possível, dessa forma, acompanhar e documentar a ação das enzimas presentes no extrato crioconcentrado sobre os sedimentos da cerveja.

4. Conclusão

O objetivo de elaborar um protocolo para a produção do extrato enzimático foi atendido, por meio da obtenção do suco crioconcentrado do abacaxi Pérola.

Por meio de testes com gelatina foi possível avaliar o potencial de hidrólise proteica do extrato, permitindo a fácil visualização da falta de formação de gel na presença da enzima ativa. A temperatura de inativação enzimática do extrato foi considerada acima de 70 °C. Quanto à influência da variação do pH, todas as amostras permaneceram em estado líquido. Nos testes com cerveja, verificou-se a ação do extrato enzimático como potencial agente clarificante, pois, a partir da primeira concentração houve sedimentação. Para a análise de cor, não houve influência na luminosidade das amostras.

Referências

- AIDER, M.; HALLEUX, D. *Cryoconcentration technology in the bio-food industry: principles and applications*. Food Science and Technology, Canadá, 2009.
- ARAUJO, L. A. A.; DUTRA, M.; CRUDE, P. R. T.; NERY, V. S.; SCHOENMAKER, J. *Desnaturação de proteínas*. IX Simpósio de Base Experimental das Ciências Naturais - Universidade Federal do ABC, Santo André, Agosto de 2011.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. *Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos*. Alimentos e Nutrição, Araraquara, n.1, v.15, p.63-72, 2004.
- BJCP – Beer Judge Certification Program. *Color Guide*. 2008. Disponível em < www.bjcp.org/colorguide.php>. Acesso em 15 de Setembro de 2014.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. *Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009. Seção III Das Bebidas Alcoólicas Fermentadas*. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em 15 de Setembro de 2014.
- BRIGIDO, R. V.; NETTO, M. S. *Produção de Cerveja*. Disciplina de Engenharia Bioquímica - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- CARVALHO, D. S.; ZAMBIAZI, R.C. *Avaliação do processo fermentativo de Cerveja Pilsen pelo uso de diferentes concentrações de Saccharomyces cerevisiae*. Alimentos e Nutrição, Araraquara, n. 3, v. 22, p. 351-357, Julho – Setembro de 2011.
- CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. *Cartilha sabor abacaxi*. Disponível em < <http://www.ceagesp.gov.br/produtor/estudos/anexos/cartilhasaborabacaxi.pdf> >. Acesso em 08 de Dezembro de 2014.
- CRESTANI, M.; BARBIERI, R. L.; HAWERROTH, F. J.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C. *Das Américas para o Mundo – origem, domesticação e dispersão do abacaxizeiro*. Ciência Rural, Santa Maria, 2010.
- CRUZ, I.; PINHEIRO, J. L.; AMORIM, S. M.; KUGLIN, V. B. *Produção de Cerveja*. Disciplina de Engenharia Bioquímica - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- ELIAS, M. J.; ARCURI, I. F.; TAMBOURGI, E. B. *Condições de pH e temperatura para máxima atividade da bromelina do abacaxi (Ananas Comosus L. Merrill)*. Acta Scientiarum Technology, Maringá, n. 2, v. 33, p. 191-196, 2011.
- FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S; PARKIN, K. L; *Química de Alimentos de Fennema*. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- FERNANDES, A. M.; SORATTO, R. P.; EVANGELISTA, R. M.; NARDIN, I. *Qualidade físico-química e de fritura de tubérculos de cultivares de batata na safra de inverno*. Horticultura Brasileira, Brasília, nº 3, v 28, Julho – Setembro de 2010.

- FERREIRA, J. F.; SANTANA, J. C. C.; TAMBOURGI, E. B.** *The effect of pH on bromelain partition from Ananas comosus by PEG4000/Phosphate ATPS. Brazilian Archives of Biology and Technology, An International Journal*, Brazil, 2011.
- FRANÇA-SANTOS, A.; ALVES, R. S.; LEITE, N. S.; FERNANDES, R. P. M.** *Estudos bioquímicos da enzima bromelina do Ananas comosus (abacaxi). Scientia Plena*, São Cristóvão, 2009.
- HORVÁTH-KERKAI, E.** *Handbook of Fruits and Fruit Processing. Blackwell Publishing*, USA, 2006.
- JUNIOR, A. A. D.; VIEIRA, A. G.; FERREIRA, T. P.** *Processo de produção de cerveja. Revista Processos Químicos*, Julho – Dezembro de 2009.
- LAZZARI, L. M.; JUNIOR, J. P. V.; REFFATTI, F.; BAGNARIOLLI, B.** *Produção de Cerveja. Disciplina de Engenharia Bioquímica - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis*, 2009.
- LIMA, S. L. T.; JESUS, M. B.; SOUSA, R. R. R.; OKAMOTO, A. K.; LIMA, R.; FRACETO, L. F.** *Estudo da atividade proteolítica de enzimas presentes em frutos. Química Nova na Escola*, Maio de 2008.
- MANETTI, L. M.; DELAPORTE, R. H.; JUNIOR, A. L.** *Metabólitos secundários da família Bromeliaceae. Química Nova*, São Paulo, 2009.
- MATOS, R. A. G.** *Cerveja: panorama do mercado, produção artesanal, e avaliação de aceitação e preferência. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Agrônoma - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis*, 2011.
- MCGUIRE, R. G.** *Reporting of Objective Color Measurements. HortScience*, December 1992.
- NUNES, T. K.; AMARANTE, A. C. C.** *Estudo da crioconcentração de suco de laranja. XVI Seminário de Iniciação Científica e X Mostra de Pesquisa - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba*, 2008.
- OETTERER, M.** *Tecnologia de obtenção da cerveja. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Tecnologia%20de%20obtencao%20cerveja.pdf>> Acesso em 10 de Dezembro de 2014.*
- OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M.** *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos. São Paulo, Ed. Manole*, 2006.
- OLIVEIRA, L. F.** *Advantages of bromelain use in food processing and medicine. Alimentos e Nutrição*, São Paulo, n. 4, v. 12, p. 215-226, 2001.
- ORSINI, R. A.** *Bromelain. Plastic and Reconstructive Surgery. US*, n. 7, v. 118, p. 1640-1644, 2006.
- PASTORE, G. M.; BICAS, J. L.; JUNIOR, M. R. M.** *Biotechnology de Alimentos. São Paulo, Ed. Atheneu*, 2013.
- PEREIRA, A. C. S.** *Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará. Dissertação de Mestrado em Tecnologia em Alimentos - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza*, 2009.
- ROWAN, A. D.; BUTTLE, D. J.; BARRETT, A. J.** *The cysteine proteinases of the pineapple plant. Biochemical Journal*, United Kingdom, 1990.
- ROXAS, M.** *The role of enzyme supplementation in digestive disorders. Alternative Medicine Review*, 2008.
- SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micros e Pequenas Empresas.** *Potencial de consumo de cervejas no Brasil. Resposta Técnica*, 2014.
- SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A.** *O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. Alimentos e Nutrição*, Araraquara, n.4, v.19, p. 491-498, Outubro – Dezembro de 2008.
- WATANABE, F. M. F.** *Estudo da viabilidade de Bifidobacterium animalis ssp. lactis em suco de yacon. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Paraná, Curitiba*, 2013.