

Programa de Pós-Graduação em Química

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Caracterização, qualificação e comparação de cevadas irrigadas cultivadas no Cerrado para produção de malte cervejeiro

ISABELLA DE OLIVEIRA CENCI

Orientadora: Prof.ª Dra. Grace Ferreira Ghesti

Coorientador: Dr. Renato Fernando Amabile

Caracterização, qualificação e comparação de cevadas irrigadas cultivadas no Cerrado para produção de malte cervejeiro

Isabella de Oliveira Cenci

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Química

Orientadora: Prof.ª Dra. Grace Ferreira Ghesti

Coorientador: Dr. Renato Fernando Amabile

FOLHA DE APROVAÇÃO

Isabella de Oliveira Cenci

"Caracterização, qualificação e comparação de cevadas irrigadas cultivada no Cerrado para produção de malte cervejeiro"

Dissertação apresentada à banca examinadora como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ensino de Ciências pelo Programa de Pós- Graduação em Química (PPGQ) da Universidade de Brasília (UnB).

Aprovada em 13 de setembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Grace Ferreira Ghesti - IQ/UnB (Presidente)

Prof.^a Dra. Ana Cristi Basile Dias - IQ/UnB (Membro Titular)

Prof. Dr. Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento - FCE/UNB (Membro Titular)

Prof. Dr. Paulo Anselmo Ziani Suarez-IQ/UnB (Membro Suplente)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que estiveram presentes em minha vida até este momento. Com toda certeza, cada um de vocês teve participação no meu crescimento profissional e pessoal.

Primeiramente a Deus, que me iluminou e deu forças para a realização deste trabalho.

À minha família, que sempre lutou por mim, pelos meus estudos, minha felicidade e principalmente, pela minha vida. Em especial, aos meus pais, que sempre me deram todo amparo e me apoiaram nas escolhas que fiz, mesmo que, por vezes, isso tenha me mantido longe de vocês. Com toda certeza, vocês são a minha maior motivação para alcançar as minhas realizações. Meus irmãos, Grasi e Luan, vocês sempre botam em prova a minha paciência, mas também são responsáveis pelos meus momentos de distração entre os dias de estresse. Primos, Guilherme e Humberto, obrigada pelo auxílio com o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório: Lourenço, meu primeiro mentor no laboratório, que, com o tempo, tornou-se um grande amigo. Viviane, Bernardo e Rafael, obrigada por estarem sempre ao meu lado; foram inúmeros ensinamentos, várias broncas, diversos lanches, sem contar os abraços de felicidade ou de desespero. Eu não teria chegado até aqui sem o companheirismo de vocês. Munique, Mariane, Luis Eduardo, Carlos Muller, Fernanda, Daniel, Vitor e Carlos, obrigada por contribuírem com seus conhecimentos e sorrisos; fizeram toda a diferença.

A meus amigos, principalmente Luis, Maria Vitória, Bruno, Morgana, Giuseppe, Geovana e João. Obrigada pela compreensão, pelos momentos de distração, pelo amparo, por me apoiarem, e até mesmo pelos puxões de orelha. Sem a força que vocês me deram nos momentos difíceis, tudo seria diferente, mais complicado.

A meus queridos ICs e TPs: Isabela, Ana Luisa, Rafael, Igor, Lucas e Santiago. Muitíssimo obrigada por toda a ajuda com as análises e procedimentos. Foram muitos grãos para contar, muitas horas de análise, sem contar as visitas ao laboratório de madrugada e nos fins de semana. Se não fosse por vocês, eu não teria conseguido finalizar este trabalho.

Aos meus professores. Desde o colégio até ao mestrado, tive a honra de ter aula com diversos professores que tanto me ensinaram, auxiliaram e me acompanharam nesse processo. Agradeço em especial aos Marcellos, Alexandre, Ana Cristi, Aline, Fernando e Júlio, que sempre me mostraram toda a beleza da química.

Aos meus orientadores. Grace e Renato, agradeço por todo o surporte, paciência, conhecimento e conversas. Eu admiro a vontade e disponibilidade de vocês, sempre fazendo diversas coisas ao mesmo tempo e, ainda assim, conseguindo encaixar um novo projeto na realidade de vocês.

À Central Analítica da Universidade de Brasília. Lennine, obrigada pelas análises e pelas risadas.

À Embrapa Cerrados, representada pelo Delvico e Renato, que me proporcionaram realizar as análises de nitrogênio.

À Cooperativa Agrária Agroindustrial, principalmente ao Noemir e Jeferson, que me proporcionaram a experiência dentro da empresa, e me forneceram as amostras. Márcia, Crislane, Jéssica, Hebert, Emanuele, José e a todo o pessoal do laboratório central, pelos ensinamentos e pela realização das análises de malte.

À Escola Superior de Cerveja e Malte, à Maltes Catarinense, à BR Maltes e à Universidade de Brasília pelas oportunidades e conhecimentos adquiridos. Marcos, você é um grande profissional. Muito obrigada pelo estágio, pelos materiais, pelos almoços pontuais e pelos chás.

À Fazenda Nativa, Grupo Rocheto, Agrícola Sempre Viva, Fazenda Itatiaia e Fazenda Esperança, por proporcionar a realização dos experimentos e a produção das amostras.

À CAPES pela concessão da bolsa para a realização desta pesquisa.

A todos, obrigada por toda cerveja apreciada. Um forte abraço, e sucesso!

RESUMO

O Brasil importa cerca de 60% de todo malte empregado para a produção de cerveja, a qual é realizada por todo o território nacional. Visando suprir a crescente demanda, reduzir a dependência do país em relação ao malte estrangeiro, e ainda reduzir os custos de logística, as indústrias malteiras e as empresas de melhoramento genético passaram a concentrar-se na adaptação da cevada ao cerrado brasileiro. Para a aplicação dessas cevadas no processo de malteação, são necessários estudos para o desenvolvimento de cultivares com qualidade malteira adequada, que sejam adaptadas à região e que ainda possuam potencial produtivo. Neste trabalho, objetivou-se caracterizar e qualificar dez cultivares de cevadas produzidas em dois locais do Cerrado: em Perdizes-MG e no entorno de Brasília-DF. As cevadas foram cultivadas em 2017 e suas características foram estabelecidas a partir das análises de teor de umidade, classificação, pré-germinados, peso de mil grãos, poder germinativo (PG), energia germinativa (EG), sensibilidade à água (SA), índice de germinação (IG), β-glucanas e teor de proteínas (TP). A partir desses resultados, selecionou-se a cultivar C8 como a mais promissora para a produção de malte, dentre os materiais apresentados, em ambas as localidades, principalmente pelos resultados das análises de germinação – EG de 98% para ambas; PG de 99% e 97%, e SA de 1,0% e 4,0%, respectivamente para CC8 e CP8. As cevadas foram malteadas e os maltes foram caracterizados por análises de friabilidade, poder diastático (PD), mosto congresso, tempo de sacarificação, extrato, pH, viscosidade, β-glucanas, nitrogênio solúvel, FAN e TP. Essa última se apresentou como um dos caracteres mais relevantes para a qualificação dos materiais, por exibir diferenças altamente significativas entre os valores, com variações de 12,81% a 17,73%, revelando a interferência do ambiente na expressão desses genótipos. Dada a importância da proteína ao processo cervejeiro, quatro métodos de quantificação de proteínas foram comparados, sendo eles: métodos de combustão – elementar de CHN e Dumas – e por digestão – Kjeldahl, e análise por injeção em fluxo (FIA). Os métodos de combustão são mais rápidos e geram menos resíduos nocivos; portanto, são mais viáveis para a realização de análises de rotina de cevada e malte. Os maltes produzidos não atingiram as especificações de malte tipo pilsen, mas apresentaram características semelhantes às de maltes especiais, tais como: TP solúvel entre 3,2% e 6,5%, PG atingindo valores limítrofes de 304 WK e teores de extratos condizentes com essa classe, com valores entre 74,5% e 79,4% – que promovem alterações sensoriais para a cerveja. Por fim, concluiu-se que as cevadas do cerrado possuem potencial para aplicação à indústria cervejeira. Devido à heterogeneidade e à grande quantidade de proteínas, legalmente, elas ainda são classificadas como forrageiras, demandando mais pesquisas de campo para melhor aplicabilidade em cervejarias.

Palavras-chave: Cerrado, cevada, malte, malteação, cerveja, genótipos.

ABSTRACT

Brazil imports near 60% of all barley malt used for beer production, which is produced throughout the country. In order to supply the growing demand, diminish the country's dependence on foreign malt, and reduce costs with logistics, malt industries and genetic improvement companies have been focused in adapting barley to the Brazilian Savannah region. For the application of this barley in the malting process, studies are necessary to develop adequate malting quality cultivars, which are well adapted to the region and still have productive potential. In this work, the aim was to characterize and qualify ten barley cultivars grown in two areas in Brazilian Savannah region: Perdizes-MG and the surroundings of Brasília-DF. The barley cultivated in 2017 and its characteristics were established from moisture content, sieving test, pre-germinated grains, thousand corn weight, germinative capacity (GC), germinative energy (GE), water sensitivity (WS), germinative index (GI), β-glucan and protein content (PC). In light of these results, cultivar C8 was selected as the most promising to malt production in both locations, especially due to the germinative results – GE of 98% in both areas; GC of 99% and 97%; WS of 1.0% and 4.0%, CC8 and CP8 respectively. The barley was malted and the malt was characterized by sieving test, moisture content, friability, diastatic power (DP), congress mash, saccharification time, extract, pH, viscosity, β-glucan, soluble nitrogen, FAN and PC. The latter was the most relevant characters for the cereal qualification as it shows a highly significant difference between values, with variations of 12.81%to17.73%, demonstrating environmental interference on the expression of genotype. Due to the importance of protein to the brewing process, four protein quantification methods were compared: combustion methods - elemental analysis (CHN) and Dumas, and digestion ones - Kjeldahl and flux injection analysis (FIA). The combustion methods are faster and have fewer harmful residues, therefore are preferred to barley and malt routine analyses. The malt produced did not reach pilsen quality, but presented special malt characteristics - soluble PC between 3.2 and 6.5%, GC of at least 304 WK and extract between 74.5 and 79.4% - which induced sensorial changes of the beer. In conclusion, barley grown in Brazilian Savannah has potential to be used in the brewery industry. Because of its high heterogeneity and protein content, in Brazil, it is legally classified as forage barley, demanding more field research to better suit breweries' needs.

Keywords: Brazilian Savannah, barley, malt, malting, beer, genotypes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Quantidade de cervejarias por região
Figura 2 – Representação gráfica da visão superior das cevadas de duas e seis fileiras4
Figura 3 – Corte longitudinal do grão da cevada: (1) Embrião; (2) Acrospira rudimentar; (3)
Radícula rudimentar; (4) Escutelo; (5) Epitélio; (6) Ráquila; (7) Camada de aleurona; (8)
Região sub-aleurona (9) Endosperma amiláceo; (10) Testa; (11) Pericarpo; (12) Casca dorsal
(pálea); (13) Casca ventral (lema) e (14) Arista6
Figura 4 – Representação do endosperma amiláceo
Figura 5 – Histórico de safras de grãos no Brasil, elaborado com os dados do IBGE14
Figura 6 – Mapa de biomas do Brasil (a) e representação espacial da abrangência do Cerrado
no Brasil (b).
Figura 7 – Tipos de clima predominantes no bioma cerrado, segundo a classificação Köppen
Figura 8 – Esquematização da produção de malte realizada em uma indústria
Figura 9 – Esquematização da produção de maite realizada em uma industria
aparência externa do grão. (c) aparência interna do grão. (Em) refere-se ao embrião e (En) ao
endosperma
Fazenda Nativa, a marcação roxa a Fazenda Itatiaia e a marcação azul a Fazenda Esperança.
Figura 11 - Análise de regressão e correlação entre os valores de proteínas obtidas pelos
métodos: (a) Kjeldahl e CHN; (b) FIA e CHN; (c) Kjeldahl e FIA; (d) Dumas e CHN; (e)
Dumas e Kjeldahl; e (f) Dumas e FIA
Figura 12 – Locais dos experimentos realizados pela FAPA visualizados no Google maps.
Sendo a marcação mais ao norte a Fazenda Nativa e a marcação ao sul o Grupo Rocheto45
Figura 13 - Resultado da análise realizada com o friabilímetro para os maltes produzidos
com 3, 5 e 7 dias de germinação para as cevadas cultivas em Cristalina (CC8) e Perdizes
(CP8). A friabilidade (%) é representada por (a);e o teor de grãos totalmente vítreos (%) é
representado por (b)
Figura 14 - Resultados extrato de moagem fina obtidos a partir da realização do mosto
congresso para os maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação, para as cevadas CC8 e
CP884
Figura 15 – Poder distático obtido para os maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação
para as cevadas CC8 e CP8
Figura 16 – Análises dos maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação para as cevadas
cultivas em Cristalina (CC8) e Perdizes (CP8), em que (a) representa as β -glucanas (mg/L), e
(b) representa a viscosidade (%). O asterisco (*) indica que o tempo de realização da filtração
do mosto foi superior a 60 min, devido à elevada viscosidade (para esse caso, a análise de
viscosidade não foi realizada)87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do grão de cevada
Tabela 2 – Variação da expansão da agricultura moderna entre os anos 1990 e 2009 no Brasil
e no Cerrado em porcentagem, juntamente com a agricultura moderna no Cerrado e no Brasil
no ano de 2009. Onde B e C fazem referência à Brasil e Cerrado, respectivamente
Tabela 3 – Temperatura de inativação de algumas enzimas de inativação
Tabela 4 – Genótipos utilizados e nomenclatura atribuída de acordo com o local de cultivo.33
Tabela 5 – Representação da análise de variância do modelo
Tabela 6 - Quantificação de proteínas através dos métodos por digestão, Kjeldahl e FIA, e
dos métodos de combustão, Dumas e análise elementar de CHN39
Tabela 7 – Comparação entre os métodos de quantificação de proteína41
Tabela 8 – Genótipos utilizados e nomenclatura atribuída de acordo com o local de cultivo. 46
Tabela 9 – Representação da análise de variância do modelo em blocos casualizados51
Tabela 10 - Classificação das cevadas plantas em Cristalina expressa em termos de primeira
qualidade53
Tabela 11 - Classificação das cevadas plantas em Perdizes expressa em termos de primeira
qualidade53
Tabela 12 – Análise de variância do modelo em blocos casualizados
Tabela 13 – Parâmetros estatísticos.
Tabela 14 – Teor de umidade
Tabela 15 – Resultados da análise de peso de mil grãos
Tabela 16 – Análise de pré-germinados
Tabela 17 - Análises de poder germinativo (PG), BRF 4 mL (energia germinativa), BRF 8
mL, índice de germinação (IG) e sensibilidade à água (SA) para as cevadas cultivadas em
Cristalina59
Tabela 18 - Análise de poder germinativo (PG), BRF 4 mL (energia germinativa), BRF 8
mL, índice de germinação (IG) e sensibilidade à água (SA) para as cevadas cultivadas em
Perdizes60
Tabela 19 – Resultados de nitrogênio total e proteínas
Tabela 20 – Análise de β-glucanas
Tabela 21 – Absorção de umidade durante a maceração
Tabela 22 – Classificação dos grãos expressa em termos de primeira qualidade
Tabela 23 - Valores de pH e compostos nitrogenados presentes no malte e valores das suas
respectivas solubilizações no mosto
Tabela 24 – Umidade das cevadas utilizadas e dos maltes produzidos. 88
Tabela 25 - Resultados das análises de malte produzidos a partir de cevadas cultivadas no
Cerrado brasileiro.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A Ambiente;

AACC

American Association of Cereal Chemists,
Associação Americana de Química de Cereais;

AB-InBev Anheuser-Busch InBev;

AmBev Companhia de Bebidas das Américas;

American Society of Brewing Chemists,

ASBC

American Society of Brewing Chemists,
Sociedade Americana de Químicos Cervejeiros;

CervBrasil Associação Brasileira da Indústria da Cerveja;

CFIA Canadian Food Inspection Agency,

Agência Canadense de Inspeção de Alimentos;

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento;

CV Coeficiente de variação;

CVe Coeficiente de variação experimental;

DMS Dimetilsulfeto;

EBC European Brewery Convention,

Convenção Europeia de Cervejarias;

EG Energia germinativa;

EMBRAPA Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária;

EQM Erro associado ao quadrado médio;

F Teste F;

FIA Análise por injestão em fluxo;

FAO Food and Agricultural Organization,
Organização de Alimentos e Agricultura;

FAPA Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária;

FAN Free amino nitrogen,

Aminoácidos livres;

FV Fontes de variação;

GL Graus de liberdade;

Grain Trade Australia,

GTA Comércio de Grãos da Austrália;

G Genótipo; ha Hectare; hL Hectolitro;

IAC Instituto Agronômico de Campinas;

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

IC Intervalo de confiança;

ICARDA International Center for Agricultural Research in the Dry Areas,

Centro Internacional de Pesquisa Agrícola em Áreas Secas;

IG Índice de germinação;

IOB

Institute of Brewing,
Instituto de Cerveja;

Laboratório de Bioprocessos Cervejeiros e Catálise em Energias

LaBCCERva Renováveis:

m/m Razão mássica;

MAPA Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento;

Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission,

MEBAK Comissão de Análise de Tecnologia de Fabricação de Cerveja na

Europa Central;

MGT Tempo médio de germinação; MMA Ministério do Meio Ambiente;

N Número de replicatas; NT Nitrogênio total; NS Nitrogênio solúvel;

P Métodos;

PA Peso da amostra inicial;

OS Proteína solúvel;

PAD-DF Plano de Assentamento Dirigido do Distrito Federal;

PG Poder germinativo; pH Potência de hidrogênio;

PLANACEM Plano Nacional de Auto-Suficiência de Cevada e Malte;

PM Proteína média; PMG Peso de mil grãos;

PMGU Peso de mil grãos úmidos;

POLOCENTRO Programa de Desenvolvimento dos Cerrados;

PR Peso do refugo;

PRODECER Programa de Desenvolvimento de Cerrados; PRODOESTE Programa de Desenvolvimento do Centro-Oeste;

PVPP Polivinilpolipirrolidona;

QM Quadrado médio; s Desvio padrão; SA Sensibilidade à água;

SIDRA Sistema IBGE de Recuperação Automática;

SNA Sociedade Nacional de Agricultura;

SUDECO Superintendência do Desenvolvimento do Centro-Oeste;

U Umidade:

UnB Universidade de Brasília;

USDA United States Department of Agriculture,

Departamento de Agricultura dos Estados Unidos;

v/v Razão volumétrica; WK *Windish-Kohlbach.*

LISTA DE SÍMBOLOS

ϕ_p	Coeficiente quadrático do método;
σ^2	Erro associado ao quadrado médio;
ϕ_a	Coeficiente quadrático ambiental;
$\phi_{ m g}$	Coeficiente quadrático genotípico;
ϕ_{ga}	Componente quadrático da interação do genótipo com o ambiente;
$\hat{\boldsymbol{\sigma}}_f^2$	Variância fenotípica;
$\hat{\sigma}_{\mathrm{e}}^{2}$	Variância ambiental;
ρ	Densidade.

GLOSSÁRIO

Açúcares Fermentescíveis: São os carboidratos metabolizados pela levedura, normalmente de cadeia pequena, até três monômeros: glicose, maltose e maltotriose.

Adaptabilidade: Capacidade dos genótipos de responder aos estímulos ambientais positivamente.

Adjuntos: Insumos cervejeiros que contribuem com carboidratos, podendo saborizar, colorir ou aromatizar a cerveja – cereais malteados e não malteados, além de amidos e açúcares de origem vegetal de acordo com o decreto Nº 6.871, de 4 de junho de 2009.

Brassagem: Todo o processo de preparação do mosto para a fermentação.

Condições edafoclimáticas: Condições definidas por fatores do meio, como clima, solo, umidade relativa dor ar, radiação luminosa, índice de precipitação e etc.

Dormência: Condição fisiológica de sementes vivas, logo após a colheita, que impedem a germinação mesmo em condições favoráveis.

Estabilidade: Capacidade de manter o desempenho esperado em função das mudanças ambientais.

Extrato: Nomenclatura dada ao material solúvel produzido a partir de cevada que foi germinada, seca, moída e submetida à mosturação com água quente.

Fenótipo: Expressão do genótipo como característica, dependendo da influência do ambiente.

Genótipo: Código genético apresentado nas células de um organismo, influenciando as características de um indivíduo.

Grau de maceração: Teor de umidade atingido na etapa de maceração.

Hectare: Unidade de medida para superfícies agrárias, que equivale a 10.000 m². Símbolo: ha.

Malte verde: A cevada após passar pelos processos de maceração e germinação, durante a malteação, ou seja, não passando pela secagem, recebe o nome de malte verde.

Malte: Produto obtido após passar por todo o processo de malteação. Normalmente, o termo malte faz referência ao malte de cevada. Quando feito a partir de outros cereais leva o nome do cereal junto. Exemplo: malte de trigo.

Manejo: Conjunto de práticas ou procedimentos que são aplicados antes e durante o cultivo, com o intuito de alterar/melhorar a produção.

Matéria estranha: Todo material encontrado que não seja o cereal em análise. Na análise de cevada, por exemplo, grãos de qualquer outro tipo de cereal são matéria estranha, juntamente com poeira, pedras, metais e outros.

Micotoxinas: Substâncias químicas produzidas por fungos; em geral são tóxicas.

Mosto: Líquido obtido durante o processo de produção de cerveja pela infusão de malte e adjuntos moídos em água aquecida.

Rendimento: Na agronomia, refere-se à produtividade das sementes por área. Na cervejaria, por outro lado, faz referência ao teor de extrato obtido.

SUMÁRIO

RE	ESUI	MO		vii
Αŀ	BSTI	RACT	·	viii
1	IN	TRO	DUÇÃO	1
2	RI	EVISÃ	ÃO DA LITERATURA	4
,	2.1	Cev	vada	4
	2.	1.1	Estrutura do grão de cevada	5
	2.	1.2	Composição química da cevada	8
,	2.2	Ası	pectos que podem prejudicar a qualidade da cevada e do malte	9
,	2.3	His	tórico da cevada – Mundo, Brasil e no Cerrado	11
,	2.4	His	tória do desenvolvimento agrícola do Cerrado	12
,	2.5	Cei	rado	15
	2.5	5.1	As pesquisas e o potencial da cevada no Cerrado	17
	2.5	5.2	Cultivares de cevada cervejeira	18
,	2.6	Ma	lteação – o processo de produção de malte	20
	2.6	6.1	Maceração	21
	2.6	6.2	Germinação	22
	2.6	6.3	Secagem	25
,	2.7	Uso	os e estudos de cevada e malte	26
3	Ol	bjetiv	os	29
	3.1	Gei	rais	29
	3.2	Esp	pecíficos	29
CA	APIT	ULO	1	30
1	IN	TRO	DUÇÃO	30
2	M	ATE	RIAL E MÉTODOS	33
,	2.1	Ma	teriais	33
	2.	1.1	Amostras	33
	2.	1.2	Reagentes	33
	2.	1.3	Equipamentos	34
,	2.2	Mé	todos	34
	2.2	2.1	Métodos por Combustão	34
	2.2	2.2	Quantificação de nitrogênio total - CHN	35
	2.2	2.3	Métodos por digestão	36
	2.2	2.4	Análises Estatísticas	38
3	RI	ESUL	TADOS E DISCUSSÃO	39
4	CO	ONCL	USÕES	43

CAPITULO) 2	44
1 INTRO	DUÇÃO	44
2 MATE	RIAL E MÉTODOS	45
2.1 Ma	aterial	45
2.1.1	Amostras	45
2.1.2	Reagentes	46
2.1.3	Equipamentos	46
2.2 Me	étodos – Análises de Cevada	47
2.2.1	Classificação de cevada	47
2.2.2	Teor de Umidade	47
2.2.3	Peso de mil grãos	48
2.2.4	Pré germinados	48
2.2.5	Poder germinativo	48
2.2.6	Energia germinativa e Sensibilidade à água (BRF 4 e 8 mL)	48
2.2.7	Índice de germinação	49
2.2.8	Teor de proteínas	49
2.2.9	Teor de β-glucanas	50
2.2.10	Análises estatísticas	50
3 RESUI	LTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1 Ar	nálises de Cevada	52
3.1.1	Classificação de cevada	52
3.1.2	Teor de umidade	56
3.1.3	Peso de mil grãos	57
3.1.4	Pré-germinados	58
3.1.5	Análises de germinação e sensibilidade à água	59
3.1.6	Teor de proteínas	62
3.1.7	Teor de β-glucana	65
4 CONC	LUSÕES	67
CAPITULO) 3	68
1 INTRO	DUÇÃO	68
2 MATE	RIAL E MÉTODOS	69
2.1 Ma	aterial	69
2.1.1	Amostras	69
2.1.2	Reagentes	69
2.1.3	Equipamentos	70
2.2 Me	étodos	71
2 2 1	Micromalteação	71

	2.2.2	Análises de Malte	71
3	RESU	ULTADOS E DISCUSSÃO	76
3	8.1 N	lalteação	76
3	3.2 A	análises de Malte	77
	3.2.1	Avaliação Físico-mecânica	78
	3.2.2	Avaliação Química	81
4	CON	CLUSÕES	90
CO	NCLU	SÕES GERAIS	91
RE	FERÊN	NCIAS	94
AN	EXO I		112
AN	EXO I	I	117
AN	EXO I	П	121
AN	EXO I	V	122
AN	EXO V	7	123
AN	EXO V	/I	124
AN	EXO V	/II	125
		7111	

INTRODUÇÃO

Produzindo 14 Bilhões de litros por ano, o Brasil é o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, segundo a CervBrasil (Associação Brasileira da Indústria da Cerveja) e o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), atrás apenas da China (460 mi hL) e dos Estados Unidos (221 mi hL). A cadeia produtiva do setor cervejeiro emprega cerca de 2,2 milhões de pessoas, sendo um dos maiores empregadores do Brasil, e ainda é responsável por 1,6% do PIB do país. As regiões sul e sudeste respondem por 83% da produção de cerveja, podendo ser reflexo da concentração econômica do país estar localizada nessas regiões (Figura 1) (CERVBRASIL, 2016; VALENTE JR; ALVES, 2016; MÜLLER; MARCUSSO, 2018).

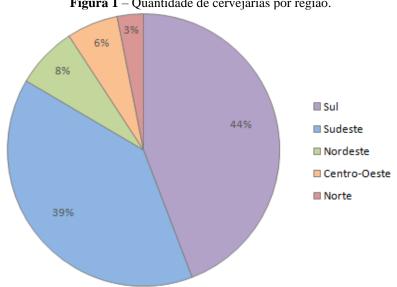


Figura 1 – Quantidade de cervejarias por região.

Fonte: adaptado de Müller; Marcusso (2018).

Em 2018, o número de cervejarias registradas no país foi de 889, e em junho do ano seguinte, a apuração já determinava mais de 1000 (MARCUSSO; MÜLLER, 2019; REVISTA DA CERVEJA, 2019). Sendo assim, com a crescente participação das microcervejarias e a ampliação das grandes cervejarias no mercado nacional, é necessário que haja uma ampla oferta de matéria-prima. Contudo, a maior parte dos insumos utilizados para a fabricação de cerveja é importada, incluindo o malte de cevada (VALENTE JR; ALVES, 2016; PINHEIRO, 2016). O país importa cerca de 60% de todo malte utilizado (MÜLLER, 2018).

A importação de malte pelo Brasil é de aproximadamente 800 mil toneladas por ano, sendo os principais fornecedores o Uruguai, a Argentina e a França (MULLER, 2018). Visando suprir a crescente demanda, e ainda reduzir a dependência do país em relação ao malte estrangeiro, as indústrias malteiras e as empresas de melhoramento genético, passaram a concentrar-se na adaptação da cevada ao cerrado brasileiro (PORTAL BRASIL, 2015). Para Amabile (2013), a região tem alto potencial para a produção da cultura, dando oportunidade e oferta ao negócio agrícola, de forma a incluir novas oportunidades comerciais. Por outro lado, ainda promove a redução dos custos de logística, uma vez que as grandes maltarias do país estão localizadas nos estados de RS, PR e SP; já as cervejarias são encontradas em todo o território nacional. Sendo assim, os custos de transporte e estocagem do malte acabam elevando o valor do produto final (MARTINS *et al.*, 2005; BASTOS, 2018).

A cevada é considerada o cereal mais antigo do mundo em cultivo, e é o quarto cereal mais produzido no mundo (*United States Department of Agriculture* – USDA) (2018a). No Brasil, os grãos de cevada são utilizados para a alimentação animal (7%), para a produção de malte (86%) e outros fins (7%) (AMABILE, 2013). As sementes de primeira qualidade (espessura superior a 2,5 mm) são destinadas à malteação. Por outro lado, aquelas que não preenchem os requisitos da indústria são destinadas para ração animal (LIZARAZO, 2003).

Essa cultura, devido às suas características fisiológicas, necessita de temperaturas de ar amenas e solos corrigidos, condições geralmente presentes nos cultivos de inverno no Cerrado (AMABILE; FALEIRO, 2014). O cultivo é realizado na entressafra, possibilitando a colheita no período de ausência de chuvas, resultando em sementes com alta qualidade, limpas e sem a presença de fungos e dormência (MONTEIRO, 2012). Entretanto, para a produção de malte, sua inserção no sistema agrícola em questão requer estudos direcionados à sua adaptação nesse ambiente, envolvendo diversas áreas do conhecimento técnico-científico, principalmente em relação ao melhoramento vegetal, visando desenvolver cultivares de melhor qualidade industrial e agronômica para o cultivo na região (AMABILE, 2013).

A região do Cerrado, localizada no planalto central do Brasil, ostenta potencial para a produção de alimentos, sendo considerada a maior produtora de grãos no Brasil e conta com 42% de toda a produção de cereais (PORTAL BRASIL, 2015). Espécies anteriormente consideradas inaptas ou marginais estão plenamente adaptadas à região, como a soja, o trigo, o girassol, a quinoa, entre outras (AMABILE, 2013). A cevada foi introduzida no centro-oeste na década de 1970, para compor o sistema irrigado devido à sua economicidade em relação ao consumo de água e sua capacidade de adaptação às condições edafoclimáticas dessa região (AMABILE, 2007a, 2013; MONTEIRO, 2012). Entretanto, visando o mercado cervejeiro, sabe-se que essa cevada não expressa a qualidade desejada para a malteação. Tal fato deve-se ao alto teor de proteína e de β-glucanas encontrados no cereal (PINHEIRO, 2016), que

superam os valores recomendados - 12,0% (BRASIL, 1996) e 200 mg L $^{-1}$ (KREISZ, 2009), respectivamente.

O alto teor proteico, juntamente com o alto teor de β-glucanas, provocam um aumento na viscosidade da cerveja, diminuindo o rendimento produtivo e ainda promovendo efeito negativo na sua estabilidade físico-química (MOLINA-CANO *et al.*, 1997). Diante desse cenário, o grupo de pesquisa da Universidade de Brasília, o LaBCCERva (Laboratório de Bioprocessos Cervejeiros e Catálise em Energias Renováveis), desenvolve pesquisas e promove a cultura cervejeira, cuja ênfase principal está relacionada à solução e à promoção de valor ao setor econômico da região, por meio de tecnologias e análises de matérias-primas cultivadas no Cerrado brasileiro.

Dessa forma, a realização deste trabalho apresentou como objetivo verificar a qualidade de algumas cultivares de cevada no Cerrado brasileiro que justificariam a pretensão e a viabilização de uma maltaria na região. As variedades foram caracterizadas e qualificadas,

de modo que permitissem identificar os seus possíveis problemas. Em seguida, visou-se resolvê-los, ou pelo menos, minimizá-los durante o processo de malteação. Sendo assim, o trabalho foi dividido em capítulos para melhor compreensão, de tal forma que cada um deles possui sua própria introdução, materiais e métodos, resultados e discussões, e breves conclusões.

O capítulo um traz uma comparação entre os métodos de quantificação de proteínas, visto que a análise pode ser realizada por diversas metodologias, e que os resultados obtidos por diferentes técnicas apresentam valores discrepantes pela forma de análise. Além disso, o teor de proteína é o principal problema encontrado em cevadas cultivadas na região. O capítulo dois aborda a caracterização e a qualificação das cultivares estudadas, de acordo com a legislação, os manuais e as literaturas recomendadas. O capítulo três refere-se à produção dos maltes e à sua posterior caracterização e qualificação, tendo como propósito a produção de cerveja. Por fim, foi criado um tópico para abordar as conclusões como um todo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CEVADA

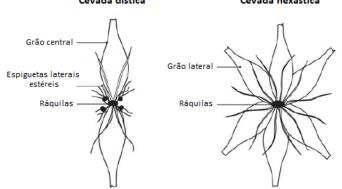
A cevada (*Hordeum vulgare* L.) é uma gramínea pertencente à família *Poaceae*, à ordem *Triticeae* e ao gênero *Hordeum*. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture* – USDA) (2018a), ocupa a quarta posição em ordem de importância econômica no mundo. Em 2018, mais da metade da cevada cultivada no mundo foi produzida em quatro regiões do planeta: na União Européia (41% da produção, sendo França e Alemanha os maiores produtores), na Federação Russa (14%), Austrália (6%) e no Canadá (5,5%) (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2018a; 2018b).

Quanto ao seu posicionamento na espiga, a *H. vulgare* L. é discernida em duas variedades ou classes, *distichum*, de duas fileiras de grãos (dística), e *hexastichum*, de seis fileiras de grãos (hexástica) (Figura 2). Na cevada hexástica, a espiga apresenta nós com seis espiguetas (flores) férteis, dando origem a seis frutos (cariopse – amarelada e sulcada longitudinalmente). Em contrapartida na cevada dística somente as flores centrais de cada lado da espiga são fecundadas, e as laterais são estéreis, dando origem a duas cariopses. Diante do exposto, grãos de tamanho irregulares são produzidos em cevadas de seis fileiras por não disporem de espaço suficiente para o desenvolvimento, gerando grãos mais achatados, menores e com teor proteico mais elevado. A cevada de duas fileiras permite crescimento mais simétrico dos grãos, gerando, portanto, tamanhos mais uniformes (PORTO, 2011; AMABILE, 2013; AMABILE; FALEIRO, 2014).

Figura 2 – Representação gráfica da visão superior das cevadas de duas e seis fileiras.

Cevada dística

Cevada hexástica



Fonte: adaptado de Mallet (2014).

A classificação da cevada também pode se dar quanto ao seu aproveitamento (qualidade) e à época de semeadura (KUNZE, 2004). Levando em consideração o

aproveitamento, denomina-se cevada cervejeira aquela que atende os padrões de qualidade para a produção de malte, como estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento através da Portaria n° 691 de 1996, Norma de Identidade e Qualidade da Cevada, para comercialização interna. Para fins cervejeiros, os padrões de qualidade que são levados em consideração são: teor de proteína, umidade e matéria estranha, classificação por tamanho, e poder germinativo (capacidade de germinação do grão). A cevada forrageira, por outro lado, não cumpre esses padrões, sendo então destinada à indústria de ração e alimentos, entre outras (BRASIL, 1996).

A classificação quanto à época de semeadura leva em consideração as estações do ano. Tem-se, então, a cevada de inverno, que é semeada em setembro na Europa, e nos meses de maio e junho no Brasil, e a cevada de primavera, cultivada em março e abril na Europa; no Brasil, porém, o cultivo nessa época não é comum. Essa categoria surgiu devido ao inverno rigoroso de algumas regiões. Nesses locais, o plantio ocorre durante a primavera para evitar danos à cevada, utilizando cultivares específicas. Sendo assim, cevadas de inverno são cultivadas em regiões de inverno ameno com alto teor de precipitação/irrigação durante o outono (VON BOTHMER, 2003; PORTO, 2011; CRUZ, M. R. 2015). Portanto, no Brasil, cultivam-se cevadas de primavera, que são semeadas no inverno brasileiro, de forma que as condições climáticas se assemelhem mais à estação de cultivo do cereal na Europa. Sabe-se que as condições edafoclimáticas do ambiente afetam a composição do grão, e, consequentemente, a sua estrutura (HOLOPAINEN-MANTILA, 2015).

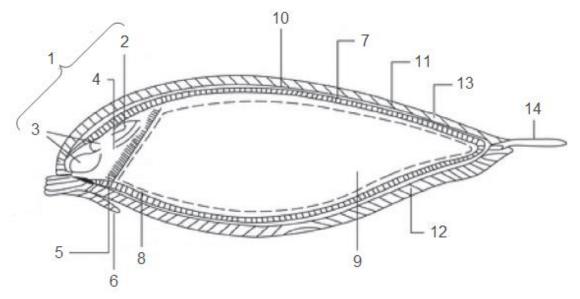
2.1.1 Estrutura do grão de cevada

O grão de cevada é dividido estruturalmente em três partes principais: região de germinação, endosperma e envoltório (coberturas do grão). Cada fragmento desempenha uma função importante para a semente, principalmente durante a germinação (BRIGGS, 1998; LIZARAZO, 2003; KUNZE, 2004; ZHANG; LI, 2009; CRUZ, M. R., 2015). A Figura 3 representa o corte longitudinal de um grão de cevada, na qual pode-se designar alguns de seus constituintes.

Para Kunze (2004), a cobertura dos grãos é constituída por sete camadas diferentes, podendo ser dividida essencialmente em três: cascas, pericarpo e testa (13 e 12, 11 e 10, na Figura 3, respectivamente). A casca encerra completamente o grão, e suas camadas epidérmicas internas e externas são revestidas por cutícula (cera), possuindo sílica (epiderme externa), celulose, hemicelulose, taninos, resinas e proteínas (ZSCHOERPER, 2009 apud

PORTO, 2011). A casca é composta por dois fragmentos aderidos à semente: a casca dorsal é chamada de lema (Figura 3 – 13), e a casca ventral é chamada de pálea (Figura 3 – 12), que é de grande importância no processo de fabricação de cerveja, pois é utilizada para promover a filtração do mosto (BRIGGS, 1998).

Figura 3 – Corte longitudinal do grão da cevada: (1) Embrião; (2) Acrospira rudimentar; (3) Radícula rudimentar; (4) Escutelo; (5) Epitélio; (6) Ráquila; (7) Camada de aleurona; (8) Região sub-aleurona (9) Endosperma amiláceo; (10) Testa; (11) Pericarpo; (12) Casca dorsal (pálea); (13) Casca ventral (lema) e (14) Arista.



Fonte: adaptado de Macleod; Evans (2016).

Logo abaixo da casca, tem-se o pericarpo (Figura 3 – 11), que, juntamente com a casca, controla a absorção de água durante a germinação e protege o grão de contaminações por fungos e insetos (BRIGGS, 1998; LIZARAZO, 2003). A parte interna do envoltório é chamada de testa (Figura 3 – 10), uma membrana semipermeável que cobre todo o grão e que permite apenas a passagem de água pura, retendo, então, a entrada de íons, substâncias de alto peso molecular e microrganismos (KUNZE, 2004; PORTO, 2011).

O objetivo do envoltório é proteger o grão, principalmente o embrião, desde a colheita até o armazenamento do malte. O envoltório é composto por tecidos mortos que são responsáveis por reter a passagem de insetos e microrganismos, além de proteger a semente contra impactos e escoriações, e ainda manter a sua umidade (PORTO, 2011; BRIGGS, 1998). No envoltório, são encontradas substâncias que podem ser prejudiciais para a cerveja, em especial para o paladar, como polifenóis e substâncias amargas (resinas e taninos) (KUNZE, 2004).

O endosperma representa a maior parcela do grão e é botanicamente dividido em endosperma amiláceo, região sub-aleurona e camada de aleurona. No entanto, as

características da camada de aleurona e do endosperma amiláceo são completamente diferentes (BRIGGS, 1998; CRUZ, M. R., 2015).

O endosperma amiláceo (Figura 3 – 9) é a reserva de nutrientes do grão, e é formado por células mortas que contêm grânulos de amido imersos em uma matriz proteica (LIZARAZO, 2003; BRAZIL, 2015), como mostrado na Figura 4. As paredes dessas células são constituídas por 22,2% de arabinoxilanas (pentosanas), 72,3% de (1 – 3)(1 – 4)-β-glucanas e 5,5% de proteínas (ETOKAKPAN; PALMER, 1994; LIZARAZO, 2003; BRAZIL, 2015). A região do endosperma amiláceo próximo à camada de aleurona (Figura 3 – 7) é chamada de região sub-aleurona (Figura 3 – 8). As células nessa localidade são menores que as demais (BRIGGS, 1998).

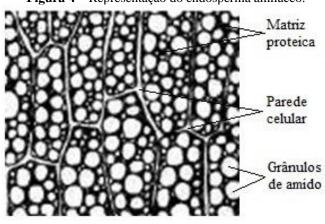


Figura 4 – Representação do endosperma amiláceo.

Fonte: adaptado de Briggs (1998).

A camada de aleurona é um tecido cuja função limita-se à síntese e à secreção de enzimas hidrolíticas, e é formada por células vivas que respiram e metabolizam, mas que não crescem nem sofrem divisão (BRIGGS, 1998). Normalmente, essa camada possui três células de espessura, e são ricas em proteínas (KUNZE, 2004). Trata-se de uma importante reserva de fosfato e íons. É nessa camada que ocorre a formação das enzimas (induzida pela ação do ácido giberélico) que promovem a degradação do endosperma e, consequentemente, a modificação do grão durante a malteação (BRIGGS, 1998; LIZARAZO, 2003; KUNZE, 2004; BRAZIL, 2015).

Na base do grão, na parte inferior, encontra-se o embrião da semente (Figura 3 – 1) (KUNZE, 2004; PORTO, 2011). O embrião é o fragmento vivo e fértil da semente de cevada. Sua estrutura é rica em proteínas, açúcares, lipídios, cinzas e vitaminas E e B (HOSENEY, 1994 apud LIZARAZO, 2003), que são utilizadas como mantimento para promover a germinação, inicialmente (ZHANG; LI, 2009).

Umedecendo o embrião, diversos processos biológicos são iniciados, entre eles a produção de ácido giberélico, que é o hormônio vegetal responsável por proporcionar a germinação da semente (BRAZIL, 2015). Com o avanço da germinação, o embrião necessita de mais nutrientes disponíveis, que são assimilados a partir do endosperma. Esses nutrientes são os açúcares, os aminoácidos e as gorduras, que são obtidos da degradação do endosperma, que ocorre pela ação de enzimas que são produzidas pela ação do ácido giberélico na camada de aleurona (BRIGGS, 1998; ZHANG; LI, 2009). Sendo assim, a compreensão da composição da cevada é de extrema importância para entender os processos bioquímicos envolvidos em sua germinação.

2.1.2 Composição química da cevada

Kunze (2004) declara que a cevada é constituída, de maneira geral, de água, carboidratos, proteínas, lipídeos e material inorgânico. O teor de umidade, segundo ele, é de 14% – 15%. No entanto, Lazzari (2006) afirmou que cevadas cervejeiras com teores de umidade de 13,5% – 14% já possuem potencial para crescimento de fungos que causam redução em sua qualidade, como o *Aspergillus* spp. Por outro lado, Tunes et al. (2010) afirmaram que armazenar sementes com teor de umidade acima de 13% pode causar mudanças em seu metabolismo celular, promovendo o aumento da atividade enzimática e respiratória das sementes. Sendo assim, os produtores e as empresas buscam manter o teor de umidade dos grãos com um máximo de 13% de umidade. Cevadas com percentual de água abaixo de 13% são consideradas secas (LAZZARI, 2006).

Os outros constituintes da cevada são estimados segundo o seu teor de matéria seca. A cevada seca, segundo Kunze (2004), possui a composição descrita na Tabela 1. No entanto, a sua composição química pode variar entre cultivares e também pode ser influenciada pelas condições edafoclimáticas e pela interação das cultivares com o ambiente em questão (LIZARAZZO, 2003; SULLIVAN *et al.*, 2013). A descrição mais aprofundada dos componentes da cevada são abordadas no ANEXO I.

Tabela 1 – Composição do grão de cevada.

Tabela I – Composição do grao de cevada.			
Constituintes	%		
Carboidratos totais	70,0-85,0		
Proteínas	10,5 – 11,5		
Material Inorgânico	2,0-4,0		
Lipídeos	1,5-2,0		
Outras substâncias	1,0 -2,0		

Fonte: adaptado de Kunze (2004).

2.2 ASPECTOS QUE PODEM PREJUDICAR A QUALIDADE DA CEVADA E DO MALTE

A qualidade do malte é influenciada pelo genótipo utilizado, pelo ambiente de cultivo do material genético e pelos processos de malteação e brassagem (LAIDIG *et al.*, 2017). Para uma cervejaria, a sua qualidade pode depender do tipo de equipamento utilizado, do tipo de cerveja a ser produzida e das especificações que esse malte deve atingir, sendo estas definidas quanto à sua eficiência (rendimento) e quanto às contribuições para o produto final (características organolépticas) (BRISSART *et al.*, 2000). Por sua vez, uma mosturação inadequada pode gerar impactos negativos na cerveja, e, por vezes, está relacionada erroneamente com a qualidade do malte. As condições da mostura podem afetar a hidrólise, principalmente na quantidade de extrato produzido, impactando diretamente no rendimento do processo. Sabe-se que diversos fatores interferem na degradação do malte durante a produção, como, por exemplo: pH, tempo e temperatura de mostura, tamanho das partículas e relação matéria seca e água (FOX, 2008). Os aspectos apresentados afetam o funcionamento das enzimas, a disponibilidade do endosperma e a solubilização dos compostos (FOX, 2018).

A malteação também repercute na qualidade do malte. Existem condições específicas para promover a modificação adequada do grão de cevada, levando em consideração o tipo de malte a ser produzido, de modo que seja possível minimizar as perdas do processo, além de evitar a obtenção de uma planta. Durante o procedimento, o operador mantém controle rigoroso das especificações de temperatura, grau de maceração (umidade), aeração do material e retirada de CO₂ (BRIGGS, 1998; MALLETT, 2014). Esses critérios são responsáveis por manter a semente viva e germinando, de modo que os escopos da malteação sejam atingidos e o malte apresente as características pretendidas. No entanto, o desempenho da maltagem também sofre interferência da expressão genética.

A qualidade da cevada maltada é extremamente complexa, pois depende das características fisiológicas, bioquímicas e genéticas da cevada usada, controladas por múltiplos genes herdados. Com a evolução do melhoramento genético, foi possível obter cevadas mais estáveis e adaptadas a diversas localidades, proporcionando aumento da produtividade e da qualidade dos grãos (FOX, 2008). Por exemplo, Laidig *et al.* (2017) afirmaram que um maior rendimento e qualidade foi alcançado com a redução da altura da planta, que proporcionou redução do acamamento e aumento da densidade da espiga. Esses resultados são obtidos a partir de estudos genômicos que permitem relacionar a expressão dos genes, ou seja, dos traços de organismos vivos da mesma espécie, através das diferenças e semelhanças encontradas em seu genoma, possibilitando, então, planejar cruzamentos que

possam proporcionar grande valor para a qualidade da cevada (FOX, 2008; SCHMIDT *et al.*, 2016).

A expressão desses genes determina a composição do grão durante o desenvolvimento da semente (FOX, 2008). Levando em consideração que o teor de proteína no grão é de extrema importância para a cevada cervejeira, Zale *et al.* (2000) realizaram pesquisas que reportaram que em todos os sete cromossomos da cevada existem regiões relacionadas ao seu teor de proteína. No entanto, a expressão dos genes também é influenciada pelas condições de cultivo da cevada, na qual diferenças no desempenho dos genótipos são reveladas em resposta a mudanças no ambiente, o que é responsável pela variabilidade fenotípica das cultivares (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; SAYD, 2014, MAGALHÃES *et al.*, 2018). A interação dos diferentes genótipos com o ambiente deve-se a duas condições. A primeira é a variação previsível que ocorre de um local para o outro, como solo e manejo, também chamada de biótica. A segunda, por sua vez, é a variação imprevisível ou abiótica, e têm-se, como exemplos, a temperatura do ar e do solo, a disponibilidade de nutrientes e a distribuição de chuvas (HOLOPAINEN-MANTILA, 2015).

Por vezes, efeitos ambientais têm impactos mais relevantes na composição do grão que o genoma em si (MOLINA-CANO et al., 1997; LAIDIG et al., 2017; POURNOSRAT et al., 2018). Ambientes favoráveis proporcionam alto rendimento e qualidade superior, quantitativamente (composição e estrutura, tamanho de grãos, teor de proteína e amido, e outros). No entanto, as condições climáticas não são controláveis. Sendo assim, ao testar essas mesmas cultivares em circunstâncias de crescimento desfavoráveis, seu desempenho pode ser prejudicado devido à interação do genótipo com o ambiente (RODRIGUEZ et al., 2008; EDNEY, 2012). Segundo Ibrahim et al. (2019), os estresses ambientais abióticos, afetam significativamente o crescimento da cevada, reduzindo a produção e a qualidade.

O conteúdo de proteínas e β-glucanas no grão de cevada pode ser fortemente comprometido pelas condições edafoclimáticas (EMEBIRI *et al.*, 2005). O aumento de nitrogênio no grão é responsável pelo seu elevado teor de proteína, o qual pode ser ocasionado pela aplicação de fertilizantes (QI *et al.*, 2006; PRYSTUPA *et al.*, 2018; KASSIE; FANATAYE, 2019), pela baixa incidência de luz (ANGELINO *et al.*, 1997; GRASHOFF; D'ANTUONO, 1997), pela seca e pela temperatura elevada do ar (ZHANG *et al.*, 2001; IBRAHIM *et al.*, 2019) no decorrer do desenvolvimento da planta. Tais fatores podem causar acúmulo de proteína pelo excesso de nitrogênio disponível ou pela redução da assimilação de nutrientes importantes para a produção de compostos fotossintéticos, como, por exemplo, os carboidratos de reserva, que são responsáveis pelo enchimento do grão (HOLOPAINEN-

MANTILA, 2015). Da mesma forma, as β-glucanas respondem negativamente a esses agentes, como relatado por Guler *et al.* (2003) e Zhang *et al.* (2001). Diversos estudos apontam esses dois componentes como causadores de elevada viscosidade e turbidez, tempo de prateleira reduzido, e principalmente baixo rendimento (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; ZHANG *et al.*, 2001; SA; PALMER, 2004; FOX, 2008; SCOBIE; JONES, 2009; JAMAR *et al.*, 2011; FANG *et al.*, 2019).

A importância do teor proteico do cereal deve-se também, às repercussões causadas em sua estrutura, como a redução do tamanho dos grãos (PRYSTUPA *et al.*, 2018) e a redução do acúmulo de carboidratos devido à relação amido/proteína da cevada (HOLOPAINEN-MANTILA, 2015). Esses aspectos alteram seriamente as propriedades de modificação da cevada. Nessas condições, as sementes são normalmente mais duras, impedindo a distribuição de água e enzimas através do endosperma, ou seja, prolonga-se o processo de malteação, pois retardam-se os processos de degradação e modificação do endosperma (BRENNAN *et al.*, 1996; PSOTA *et al.*, 2007; PIACENTINI, 2015).

Diante dos argumentos levantados, a escolha do genótipo deve levar em consideração a localidade de cultivo, de modo que seja possível atender à demanda de qualidade exigida pelas empresas de produção de malte. Historicamente, a cevada apresenta ampla adaptabilidade a variações ambientais, permitindo que seu cultivo seja realizado em diversas localidades do planeta, desde que as exigências da cultura sejam supridas (EDNEY, 2012).

2.3 HISTÓRICO DA CEVADA – MUNDO, BRASIL E CERRADO

A cevada é um dos cereais de cultivo mais antigos do mundo. Relatos de 8.000 a.C. indicam domesticação da cultura: restos arqueológicos foram encontrados na região do Crescente Fértil, que atualmente é constituída por Irã, Iraque, Israel, Turquia, Síria e Jordânia (BADR *et al.*, 2000). O uso e cultivo da cevada se espalhou por todo o continuente europeu com o início das rotas de comercialização agrícola e com a deslocação das civilizações do Crescente Fértil (NEWMAN; NEWMAN, 2006).

Existem relatos que afirmam que a cevada foi semeada pela primeira vez na América em 1494, quando Cristóvão Colombo, na sua segunda viagem, trouxe sementes desse cereal (ARIAS, 1999a; NEWMAN; NEWMAN, 2006; PROCESSO INDUSTRIAL, 2017). Especificamente no Brasil, a primeira referência sobre a cultura foi feita em 1583 por Freim Carim, que relatou cultivos na região de São Paulo (ARIAS, 1999a; 1999b). Em 1854, no Rio

Grande do Sul, Hildebrand a reportou como uma cultura estabelecida nas colônias alemãs (ARIAS, 1999a).

Os primeiros experimentos com cevada foram feitos em 1919, em conjunto com a cultura do trigo na Estação experimental Alfredo Chavez, em Veranópolis, no Rio Grande do Sul (ARIAS, 1999b). No entanto, a importância econômica da cevada só foi atingida em 1930, quando seu cultivo comercial foi iniciado com a finalidade de produzir malte (AMABILE; FALEIRO, 2014). Blake *et al.* (2011) afirmaram que a cevada é uma cultura de alta adaptação em ambientes temperados, com chuvas limitadas, características que são percebidas na região do Cerrado.

O cultivo de cevada no Cerrado teve início em 1976 com a implementação do Plano Nacional de Autossuficiência de Cevada e Malte (PLANACEM). O programa foi criado pelo governo brasileiro, e as pesquisas foram realizadas pela Embrapa juntamente com empresas do ramo cervejeiro. A finalidade era aumentar a produção nacional de cevada visando diminuir a sua importação (MINELLA, 1999). Posteriormente, a Embrapa formalizou outras parcerias para conduzir pesquisas na região, como em 1983, com as cervejarias Kaiser, Brahma e Antarctica e a empresa de desenvolvimento rural A Campo; em 2000 com a Malteria do Vale; e em 2002 com a Cooperativa Agrária e a Companhia de Bebidas das Américas – AmBev (AMABILE; FALEIRO, 2014).

2.4 HISTÓRIA DO DESENVOLVIMENTO AGRÍCOLA DO CERRADO

Na década de 1930, iniciou-se o desenvolvimento industrial do país, concentrado principalmente na região Sudeste. Visando atender o fortalecimento do setor industrial, que demandava a elevação da oferta dos bens primários e a redução da mão-de-obra, cujo objetivo final era a redução do preço dos produtos agroindustriais, deu-se início ao desenvolvimento agrícola da região Centro-Oeste, que possui como vantagem a planície das suas terras. Essa expansão agrícola ficou conhecida como "Marcha para o Oeste" (HELFAND; REZENDE, 2000; BEZERRA; CLEPS JR, 2004).

O desenvolvimento da região Centro-Oeste – consequentemente, do Cerrado brasileiro – intensifica-se na década de 60 com a construção de Brasília e a transferência da capital do Brasil. No entanto, a valorização real da região só teve início com a implementação de projetos para o seu desenvolvimento. Os seguintes programas foram criados: Superintendência do Desenvolvimento do Centro-Oeste – SUDECO, Programa de Desenvolvimento do Centro-Oeste – PRODOESTE, Programa de Desenvolvimento dos

Cerrados – POLOCENTRO, Programa de Desenvolvimento de Cerrados – PRODECER, e outros. A Embrapa também foi de grande importância, pois criou seis Centros de Pesquisa na região, sendo eles: Embrapa Cerrados – Planaltina, DF; Embrapa Arroz e Feijão – Santo Antônio de Goiás, GO; Embrapa Milho e Sorgo – Sete Lagoas, MG; Embrapa Gado de Corte – Campo Grande, MS; Embrapa Hortaliças – Gama, DF, e Embrapa Recursos Genéticos – Brasília, DF (WAGNER, 1982; OLIVEIRA; CUNHA; CONSTANTINO, 2017).

Nos anos 80, a região Centro-Oeste passou a responder por 40% da produção nacional de grãos. Visando a competir com a região Sudeste, foram construídas as primeiras agroindústrias na região. Durante esse período, também ocorreu a maior concentração de investimentos na cadeia produtiva da soja, com destaque na região Centro-Oeste, que representou 36% da área colhida do país (BEZERRA; CLEPS JR, 2004). Na década seguinte, essa porcentagem subiu para 54% do total. Segundo Bernardes (2015), em 2009, o percentual chegou a 58,56% em área colhida e ainda a 64,28% da produção de soja do país. Bernardes (2015) ainda analisou a produtividade de milho e algodão nesse mesmo ano, e a média de produção entre os anos 1990-2009 dessas mesmas culturas, como mostrado na Tabela 2. Percebe-se, que em todos os casos, a produção no Cerrado superou a média brasileira, ou então é responsável pela maior contribuição produtiva do país, passando, então, a desempenhar um papel estratégico no seu desenvolvimento agroindustrial (BERNARDES, 2015).

Tabela 2 – Variação da expansão da agricultura moderna entre os anos 1990 e 2009 no Brasil e no Cerrado em porcentagem, juntamente com a agricultura moderna no Cerrado e no Brasil no ano de 2009.

	Agricultura moderna no Cerrado – 2009*				
Produtos	Área colhida (hectares)		Produção (toneladas)		Rendimento
	Total	%	Total	%	(kg/ha)
Soja C.	12.737.341	58,56	36.863.051	64,28	2.796
Soja B.	21.750.468	100,00	57.345382	100,00	2.636
Milho C.	6.190.661	45,34	25.309.199	49,90	4.339
Milho B.	13.654.715	100,00	50.719.822	100,00	3.714
Algodão C.	780.228	96,12	2.840.250	98,02	4.010
Algodão B.	811.686	100,00	2.897.542	100,00	3.569
Day Jastan	Variação – 1990-2009 (%)				
Produtos	Área colhida (hecta	Produção (toneladas)			
Soja C.	162,36		352,99		
Soja B.	89,34		188,20		
Milho C.	143,44 400,94				
Milho B.	19,84		137,59		
Algodão C.	263,81		836,10		
Algodão B.	-41,68		62,49		

Nota: *inclui MT, MS, GO, MG, BA, PI, MA e TO. B e C fazem referência a Brasil e Cerrado, respectivamente. Fonte: adaptado de Bernardes (2015), SIDRA/IBGE.

Nos anos 90, graças à mordernização na agricultura, com a implementação de novas tecnologias e com as pesquisas agronômicas, a produção de grãos no Cerrado atingiu elevada eficiência, ou seja, maior produtividade por unidade de tempo e área. Levando em consideração as pesquisas agronômicas, o alto rendimento obtido deve-se ao desenvolvimento de cultivares geneticamente modificados que possuem ampla adptação para a região do Cerrado. Outros fatores também são importantes, como o desenvolvimento de tecnologias para a correção e manejo de solo através da aplicação de fertilizantes (adubos), a rotação de culturas, o controle de pragas atráves do uso de defensivos agrícolas, e também a implementação dos sistemas de irrigação (pivot). Analisando o histórico de safras do Brasil através da Figura 5, conclui-se que a produção brasileira de grãos cresceu expressivamente, mesmo que a área colhida não tenha aumentado tanto, o que é explicado pelos fatos abordados anteriormente (HELFAND; REZENDE, 2000; BEZERRA; CLEPS JR., 2004; BERNARDES, 2015).

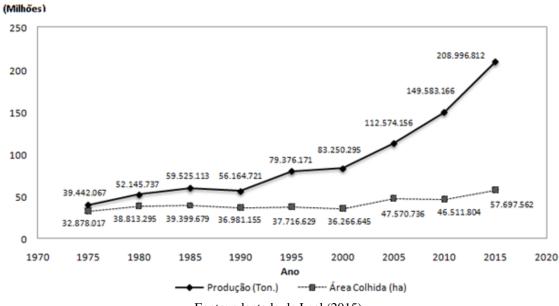


Figura 5 – Histórico de safras de grãos no Brasil, elaborado com os dados do IBGE.

Fonte: adaptado de Leal (2015).

Segundo Miragaya (2014), o melhor desempenho econômico brasileiro, nas últimas quatro décadas, é da região Centro-Oeste, e tende a continuar sendo por mais vinte ou trinta anos, pelo menos. O desempenho econômico elevado é consequência da expansão da atividade agropecuária na região, que, por sua vez é responsável por gerar oportunidades de trabalho. Na região, existem cerca de 150 mil famílias de agricultores, das quais 40% dependem majoritariamente ou exclusivamente das atividades agrícolas (MIRAGAYA, 2014).

Devido ao progresso da região ser considerado muito recente, e ter como objetivo primário fornecer insumos para a região sudeste, a sua produção industrial é muito baixa. Em 2011, o Centro-Oeste foi responsável por apenas 4% da produção do Brasil, o que o coloca em último lugar entre as regiões do país. Sendo assim, os insumos são transportados por longas distâncias até chegar às regiões consumidoras ou exportadoras, o que eleva o valor do produto final (MIRAGAYA, 2014). Por esse motivo, uma ampliação no setor industrial da região pode gerar novas oportunidades de trabalho, reduzir o custo de transporte, e ainda aumentar o desenvolvimento econômico da região.

2.5 **CERRADO**

O Cerrado é um dos seis biomas continentais brasileiros, como mostrado na Figura 6(a) e abrange uma área de aproximadamente 2.036.448 km², o que representa 23,92% do território. O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, atrás apenas da Amazônia. Estendese por boa parte ou pela totalidade de quatro estados, sendo eles Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, além do Distrito Federal, mas também é encontrado em Mato Grosso, Bahia, Maranhão, Piauí, Pará, Rondônia, Paraná e São Paulo, como mostra a Figura 6(b) (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2004; MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2007). Ademais, é reconhecido como a Savana mais rica do mundo em biodiversidade, abrigando uma flora com mais de 12.000 espécies, das quais aproximadamente 40% são endêmicas (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2015).

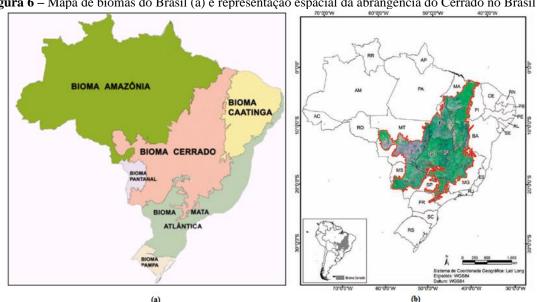


Figura 6 – Mapa de biomas do Brasil (a) e representação espacial da abrangência do Cerrado no Brasil (b).

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2004).

No Cerrado, encontram-se diversos tipos de solo, entre eles os Cambissolos, Neossolos Quartzarênicos, os Neossolos Flúvicos, os Hidromórficos e os de maiores proporções, os Latossolos (46%) sendo estes vermelho, vermelho-amarelo e roxo (MACEDO, 1996 apud AMABILE, 2013). Esses solos têm como características o baixo pH (ácido), variando de 4,3 a 6,2, baixo conteúdo de matéria orgânica (3,0% – 5,0%), elevado teor de ferro e alumínio (óxidos), e baixa disponibilidade de nutrientes, como fósforo, cálcio, magnésio, potássio e zinco. São altamente intemperizados e de baixa capacidade de troca catiônica (MONTEIRO, 2012). Do ponto de vista agrícola, é de extrema importância, então, a correção desses solos e o uso de fertilizantes para atender a demanda da cultura que será semeada nessa região, visando atingir uma produtividade que seja economicamente favorável.

No bioma, observa-se a ocorrência de dois tipos de climas predominantes, como mostrado na Figura 7, obtida a partir do mapeamento da distribuição das classes climáticas, de acordo com a classificação de Köppen. Em vermelho, tem-se o tipo de clima que predomina no Cerrado, o megatérmico ou tropical úmido (identificado com A na classificação Köppen), que apresenta ainda um subtipo, o clima de Savana (w), com invernos secos e chuvas máximas de verão. A região em azul abrange os estados de Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, e o tipo de clima é o mesotérmico ou temperado quente (C), com invernos secos devido à altitude (tropical de altitude) e verões quentes (wa) (DA SILVA, F. A. M. *et al.*, 2008).

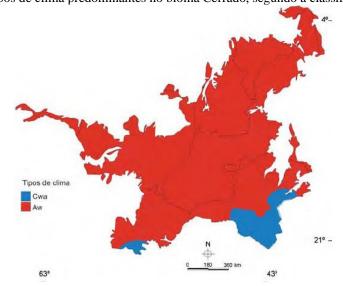


Figura 7 – Tipos de clima predominantes no bioma Cerrado, segundo a classificação Köppen.

Fonte: Da Silva, F. A. M. et al. (2008).

O clima da região deve-se a alguns fatores, como latitude, altitude, circulação do ar atmosférico e umidade relativa do ar. Por estar localizado na zona intertropical (baixa latitude), a quantidade de radiação solar que incide sobre a superficíe do Cerrado é alta. Dessa forma, a temperatura da região é mais elevada, mas a amplitude térmica depende da altitude

do local. A umidade relativa do ar é considerada moderada na maior parte do ano, com valores entre 60% – 90% nos períodos mais chuvosos. Nos períodos mais secos, porém, segundo registros metereológicos, foram registrados valores de até 9% de umidade. A ação conjunta desses efeitos confere ao território duas estações bem definidas: uma chuvosa que se inicia entre o final de setembro e meados de outubro e perdura até abril; e uma estação seca, que ocorre entre os meses de abril e setembro (DA SILVA, F. A. M. *et al.*, 2008).

2.5.1 As pesquisas e o potencial da cevada no Cerrado

Em 1979, tiveram início as Reuniões Anuais de Pesquisa de Cevada, que têm como objetivo discutir os resultados obtidos dos ensaios realizados e ainda debater sobre novas recomendações para a cultura. Posteriormente, em 1981, criou-se a Comissão de Pesquisa de Cevada, que é responsável por editar as Recomendações para o Cultivo da Cevada Cervejeira a cada dois anos (ARIAS, 1999b). Atualmente, o exemplar é conhecido como Indicações Técnicas para a Produção de Cevada Cervejeira, e é publicado pela Embrapa Trigo (REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 2017).

No Cerrado, são poucos os estudos sobre a diversidade genética da cevada (MONTEIRO, 2012). É de extrema importância a caracterização e a avaliação da diversidade genética, viabilizando uma ampliação da coleção de trabalho existente para obtenção de genótipos superiores (SAYD, 2014). É importante também identificar e quantificar os efeitos genéticos, ambientais e ainda os efeitos da interação do genótipo com o ambiente (MONTEIRO, 2012; AMABILE, 2013; SAYD, 2014).

Em 1977, Andrade *et al.* descreveram o desempenho de variedades de cevada no Distrito Federal. Os resultados obtidos foram satisfatórios, com redimentos superiores aos alcançados com o trigo (ANDRADE *et al.*, 1977). Em 2002, a Embrapa Cerrados e a Centro Internacional de Pesquisa Agrícola em Áreas Secas (*International Center for Agricultural Research in the Dry Areas* – ICARDA) estabeleceram um processo colaborativo para avaliar diversos genótipos desenvolvidos para o Brasil, incluindo o Cerrado. Os resultados obtidos foram importantes para incentivar a expansão da produção, e ainda para a sustentação tecnológica, ecológica e econômica da cultura (AMABILE, 2013).

O cultivo da cevada sob irrigação no Cerrado pode oferecer muitas vantagens, tanto agronomicamente quanto socioeconomicamente. Para Amabile e Faleiro (2014), as vantagens agronômicas são: maior eficiência do uso de água, menor uso de defensivos, maior produção de palhada quando comparada a outras gramíneas, e ainda controle de ervas daninhas por

supressão. Em contrapartida, as vantagens socioeconômicas são: economia de energia elétrica, menor custo de produção, maior rentabilidade para o produtor e geração de empregos na cadeia produtiva (AMABILE; FALEIRO, 2014).

Com os experimentos já realizados na região, é possível identificar algumas características peculiares. A cevada apresenta sementes limpas, sem período de dormência e sem a presença de fungos, como o *Fusarium graminearum* (SILVA, L. C., 2005; AMABILE, 2007b). Esse fungo produz micotoxinas que se acumulam no grão, apresentando elevado risco para os consumidores. Quanto à dormência, que nesse caso não é evidenciada, permite que os grãos possam ser processados logo após a colheita, de modo que se evite armazená-los por longos períodos (AMABILE, 2007b; 2013).

A primeira cultivar de cevada cervejeira lançada para o sistema de produção do Cerrado foi a cultivar BRS 180, lançada em 1999 (DA SILVA, D. B. *et al.*, 2000). Posteriormente, em 2005, a BRS 195 teve sua recomendação estendida para o Cerrado, e outras cultivares foram registradas (SAYD, 2014). Os registro foram: BRS Deméter em 2007 (AMABILE *et al.*, 2008), BRS Sampa em 2008 (MINELLA *et al.*, 2009a), BRS Manduri em 2011 (MINELLA *et al.*, 2011), BRS Savanna em 2013 (AMABILE *et al.*, 2013), e, mais recentemente, a BRS Kalibre em 2016 (MINELLA *et al.*, 2017b).

2.5.2 Cultivares de cevada cervejeira

No Brasil, existem 48 cultivares de cevada registradas, das quais sete são destinadas ao cultivo irrigado no Cerrado, como visto anteriormente (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2017). A definição de cultivar, segundo a Lei de Proteção de Cultivares, Lei n° 9.456 de 1997:

A variedade de qualquer gênero ou espécie vegetal superior que seja claramente distinguível de outras cultivares conhecidas por margem mínima de descritores, por sua denominação própria, que seja homogênea e estável quanto aos descritores através de gerações sucessivas e seja de espécie passível de uso pelo complexo agroflorestal, descrita em publicação especializada disponível e acessível ao público, bem como a linhagem componente de híbridos (BRASIL, 1996, p. 1).

Sendo assim, segundo o pesquisador da Embrapa Eduardo Caierão, a escolha da cultivar depende da demanda industrial, da resistência a doenças e pragas, do potencial de rendimento e do investimento associado exigido, considerando então a adubação, a aplicação de defensivos agrícolas e outros, ou seja, define o manejo e o tamanho do investimento para o produtor. É importante lembrar que, mesmo com a evolução do melhoramento genético, a

produtividade final também depende do manejo da lavoura, isto é, da interação da cultura com o ambiente. Desse modo, os produtores analisam todos os fatores e buscam o maior retorno financeiro (ANTUNES, 2013).

No entanto, anos de pesquisa são necessários para o lançamento de uma nova cultivar. Para o café, por exemplo, o desenvolvimento de uma cultivar pode levar trinta anos ou mais, de acordo com Gerson Silva Giomo, coordenador do Programa de Cafés Especiais do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) (SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA, 2015). Antes de serem disponibilizadas ao comércio, diversas etapas são realizadas, começando por estudos de recursos genéticos, passando por hibridização, seleção, purificação, análises em campo e outros (ANTUNES, 2013). No caso da cevada, não é diferente. Segundo o pesquisador da embrapa Euclydes Minella, "pelo método tradicional de melhoramento genético, uma nova cultivar leva pelo menos seis anos para fixar as suas características genéticas, depois disso são necessários mais quatro anos em testes de campo" (VASCONCELOS, 2017). Conclui-se então, que as pesquisas são muito demoradas, mas que são de extrema importância para o produtor e para as agroindustrias, pois o retorno financeiro é satisfatório.

A Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada é realizada a cada dois anos e é organizada, executada e promovida pela Ambev juntamente com a Cooperativa Agrária e a Embrapa Trigo. O objetivo do evento é a avaliação das safras dos dois anos que se passaram, considerando os indicadores de produção, os impactos econômicos, as doenças observadas, o relato das perspectivas para as próximas safras e ainda o fornecimento de orientações para o cultivo de cevada em diversas regiões, assim como as cultivares mais indicadas para cada uma delas (MINELLA, 2015, 2017a).

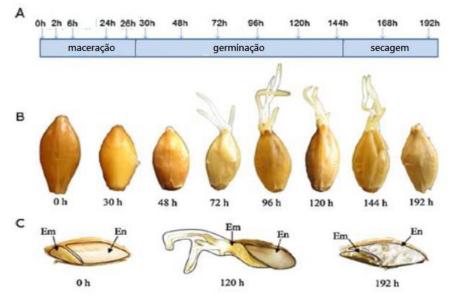
A 31ª edição da reunião foi realizada em abril de 2017, e as cultivares de cevada recomendadas para as safras de 2017 e 2018 foram: Anag 01, Ana 02, Danielle, BRS Brau, BRS Cauê, BRS Quaranta, BRS Korbel e BRS Sampa. As primeiras três variedades são da FAPA (Agrária) e as cultivares BRS são da Embrapa (MINELLA, 2017a). Nessa safra, também foram plantadas as variedades BRS 180, BRS 195, BRS Savanna, BRS Demeter, BRS Itanema, BRS Manduri da Embrapa e a ABI Voyager, da AB-InBev. A descrição das características de cada uma dessas cultivares foi reportada no ANEXO II.

2.6 MALTEAÇÃO – O PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MALTE

Os cereais, de um modo geral, podem ser submetidos a um processo chamado malteação, no qual o produto final é o malte do respectivo cereal. A cevada, porém, é o cereal mais utilizado na produção de malte cervejeiro. A malteação é um processo no qual o objetivo final não é a obtenção de uma nova planta, mas a modificação do corpo farinhoso do grão e também a formação, ativação e liberação de enzimas. Sendo assim, a cevada é submetida a germinação artificial, em que as condições de umidade, temperatura, tempo e aeração são controladas (PORTO, 2011; BRAZIL, 2015).

A malteação é dividida em três etapas principais: maceração, germinação e secagem. Entretanto, antes de iniciar o processo, a cevada deve ser aprovada em alguns critérios de avaliação, visando determinar se possui qualidade para a produção de malte. As análises realizadas têm como intuito verificar se os grãos estão danificados, contaminados, aptos para germinar e se possuem o tamanho adequado. Caso todas as exigências sejam asseguradas, a cevada é, então, encaminhada para limpeza e classificação. Durante a limpeza são eliminados materiais estranhos (grãos estranhos, pedra, metais, palha e outros), poeira e grãos quebrados. Depois, a cevada é classificada, e os grãos de tamanho adequado são encaminhados para a malteação (BRIGGS, 1998; KUNZE, 2004; MALLETT, 2014). As Figuras 8 e 9 mostram a evolução do grão durante o processo de malteação, e o processamento da cevada para a produção de malte em escala industrial, respectivamente.

Figura 8 – Grão de cevada durante o processo de malteação. (a) cronograma do processo. (b) aparência externa do grão. (c) aparência interna do grão. (Em) refere-se ao embrião e (En) ao endosperma



Fonte: adaptado de Pinheiro (2016).

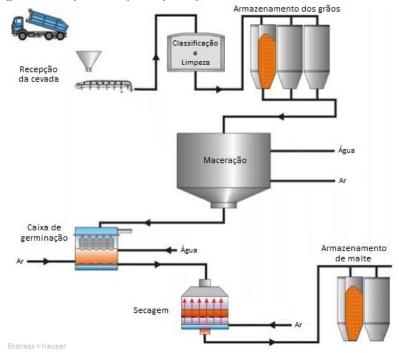


Figura 9 – Esquematização da produção de malte realizada em uma indústria.

Fonte: adaptado de Hermes (2013).

2.6.1 Maceração

A malteação inicia-se com o aumento do teor de umidade do cereal, que é obtido durante a etapa de maceração. A hidratação das sementes viabiliza a ativação dos seus tecidos vivos e, consequentemente, promove a germinação. Sabe-se que a cevada não germina com umidade inferior a 30%; contudo, valores superiores a 40% favorecem um maior desenvolvimento enzimático. A maceração também tem como finalidade a limpeza dos grãos, lixiviando substâncias indesejáveis presentes na casca (LIZARAZO, 2003; PORTO, 2011; MALLETT, 2014; BRAZIL, 2015).

A hidratação é viabilizada pela submersão dos grãos em água limpa e de boa qualidade. A água também fornece oxigênio para a respiração do grão e, consequentemente, para o seu desenvolvimento. Com o aumento da demanda de O₂, o líquido não é capaz de suprir a necessidade do embrião, podendo ocasionar a respiração anaeróbica, a fermentação e até a morte das sementes. Para aumentar a quantidade de oxigênio na água e ainda eliminar o excesso de gás carbônico, circula-se ar comprimido durante o procedimento. Uma outra forma de proporcionar gás oxigênio para o grão é intercalar períodos de submersão e períodos secos. Outras vantagens da realização desses intervalos estão relacionadas com a homogeização do teor de água em toda a estrutura do grão e com a otimização do processo, pois promovem

maior absorção de umidade. Sendo assim, o ideal é reduzir o tempo submerso e aumentar a cirulação de ar (LIZARAZO, 2003; BRAZIL, 2015; PINHEIRO, 2016).

A absorção de água pelo grão também está relacionada com o tempo de maceração, com a temperatura e com a sua rigidez. O tempo de maceração é variável e depende das cultivares utilizadas e de suas características, que podem ser afetadas pela região de plantio. No experimento realizado por Montanuci *et al.* (2014), por exemplo, utilizou-se a cultivar BRS Elis, com submersão de 32 horas para testes de maceração em temperaturas de 10 °C, 15 °C, 20 °C e 25 °C. Eles observaram que, com o aumento da temperatura, o tempo para atingir a umidade desejada diminui. Por outro lado, têm-se as instruções publicadas por organizações que buscam padronizar as análises de cerveja e de seus insumos, como a *Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission* (Comissão de Análise de Tecnologia de Fabricação de Cerveja na Europa Central – MEBAK). Segundo as instruções de micromalteação da MEBAK, inicia-se a maceração com uma submersão de 5 horas, seguida de uma aeração por 19 horas, uma segunda submersão por 3 horas e uma aeração de 21 horas – todo o processo a 14°C, visando atingir uma umidade de 45% (MALLET, 2014; MONTANUCI *et al.*, 2014).

No início da maceração a taxa de absorção é maior e vai diminuindo com a aproximação do ponto de saturação; pode, ainda, promover uma expansão do volume do grão em até 40%. Sabe-se que temperaturas mais elevadas facilitam a absorção de água. No entando, segundo Mallett (2014), a água pode ser aquecida ou resfriada, de acordo com o procedimento estabelecido pelo feitor. Quanto à rigidez, cevadas que possuem a matriz proteica fortemente ligada aos grânulos de amido proporcionam maior dureza à cevada, dificultando a difusão de água pelo endosperma (KUNZE, 2004; PORTO, 2011; MALLETT, 2014).

Após a maceração, a cevada molhada é transferida para a etapa de germinação.

2.6.2 Germinação

A germinação tem como princípio a transformação da semente em uma nova planta. Na germinação artificial, por outro lado, o objetivo não é obter uma nova planta, mas aproveitar as transformações naturais que ocorrem no grão para gerar as enzimas necessárias durante a germinação e na produção de cerveja, e ainda obter o máximo possível de extrato atráves das modificações do endosperma. Essas transformações que ocorrem são estruturais e químicas, como, por exemplo, a degradação da parede celular do endosperma e a hidrólise das proteínas e do amido (TSCHOPE, 1999 apud PORTO, 2011; LIZARAZO, 2003).

Após a hidratação, o embrião consome sua pequena reserva energética para iniciar o seu desenvolvimento, pois não possui clorofilas nesse momento, ou seja, não é capaz de realizar a fotossíntese (forma de obtenção de energia das plantas). Com o avanço da germinação, o embrião necessita de mais nutrientes, os quais são assimilados pelo escutelo a partir do endosperma. Para que seja possível utilizar o endosperma como fonte energética, é necessária a atuação de enzimas para degradá-lo em subtâncias menores que sejam solúveis e, consequentemente, transportáveis. No entanto, as enzimas β-amilases são as únicas enzimas que já estão presentes na cevada. Sendo assim, as outras enzimas responsáveis pela degradação do endosperma são produzidas. Essa produção acontece na camada de aleurona e é desencadeada pela liberação de hormônios (ácido giberélico e giberelinas) a partir do embrião (KUNZE, 2004; PORTO, 2011; PINHEIRO, 2016).

As giberelinas atingem o máximo de produção no segundo dia de germinação; portanto, a produção de enzimas é mais expressiva a partir desse dia (NEWMAN; NEWMAN, 2008). É importante considerar que diferentes enzimas são produzidas em momentos distintos. As enzimas β-glucanases são as primeiras a serem formadas, pois são responsáveis pela degradação das paredes celulares do endosperma formadas por β-glucanas. Posteriormente, as enzimas responsáveis pela degradação do amido são produzidas: as enzimas β- e as α-amilases. As β-amilases, como mencionado anteriormente, já estão presentes no grão de cevada, mas sua concentração diminui nos primeiros dias de germinação e volta a aumentar entre o segundo e o terceiro dia. Enquanto isso, as enzimas α-amilases são produzidas entre o terceiro e o quarto dia de germinação. Por fim, tem-se a formação das proteases, que são responsáveis pela quebra das proteínas (KUNZE, 2004; PORTO, 2011).

A produção de enzimas é influenciada por diversos fatores, sendo eles, a variedade da cevada, o tamanho dos grãos, a temperatura de germinação, o teor de umidade e o suprimento de oxigênio. É importante lembrar que a cevada não germina com umidade inferior a 30%; portanto, durante a germinação, o seu valor é verificado periodicamente, pois o material perde umidade para a atmosfera, e essa taxa de evaporação pode variar dependendo da umidade relativa do ar. Assim sendo, a reposição de água é feita através de aspersão (BRIGGS, 1998; KUNZE, 2004; PORTO, 2011).

Em temperaturas mais elevadas, os grãos se desenvolvem mais rapidamente; entretanto, a germinação ocorre de forma desigual, e há maiores perdas de malteação. Nessas condições, o crescimento do grão é acelerado, de modo que há um aumento na taxa de respiração do grão e também na produção de calor. Quanto maior for a taxa de respiração do grão, mais carboidratos são consumidos para produzir dióxido de carbono, água e calor, ou

seja, tem-se um decréscimo na quantidade de extrato. Segundo Newman e Newman (2008), a uma temperatura de 25°C, as enzimas são produzidas mais rapidamente, mas a taxa de formação é menor que em temperaturas mais baixas (16 °C – 20 °C). Sendo assim, utilizam-se temperaturas mais altas no início da germinação, reduzindo-as progressivamente até o final do processo. Outro fator que deve ser considerado é que o desenvolvimento de bactérias e fungos é mais evidenciado em temperaturas maiores (BRIGGS, 1998; NEWMAN; NEWMAN, 2008).

A respiração dos grãos libera CO₂ e calor, o que aquece a massa de grãos, assim como na maceração. Portanto, durante a germinação, a circulação de ar também é de extrema importância. A troca de ar permite o resfriamento dos grãos, promove a sua oxigenação e ainda é responsável por dissipar o CO₂ que está incorporado na massa, podendo matar o embrião. Nesse momento, é importante também realizar a movimentação dos grãos, para que as raízes não formem emaranhados e impossibilitem a passagem de ar (PORTO, 2011; MALLET, 2014; BRAZIL, 2015).

O tempo de germinação depende do tipo de malte que se deseja fazer, da cultivar de cevada utilizada e do tamanho dos grãos. Taylor *et al.* (2018) realizaram teste de germinação de três, cinco e sete dias, e os resultados obtidos foram: redução de viscosidade, do peso, do teor de nitrogênio total e de β-glucanas, com o aumento do tempo de germinação, e ainda aumento na friabilidade do grão. No entanto, deve-se considerar que cevadas de alto rendimento e classificação superior apresentam grãos mais bojudos (dependendo das condições de cultivo), ou seja, o endosperma é maior, o que demanda mais tempo para sua modificação. Em caso de alto teor de proteínas, o tempo de germinação também deverá ser maior, para proporcionar uma maior degradação desses compostos. A espessura das paredes celulares do endospermas também é relevante: quanto mais espessa, maior é o tempo para a sua dregadação (LIZARAZO, 2003; PINHEIRO, 2016).

Para determinar as condições de germinação, deve-se levar em consideração o tipo de malte que será preparado. Os maltes conhecidos como maltes-base, como os tipos *Pilsen* e o *Pale Ale*, necessitam de alta eficiência enzimática, para que ocorra a conversão do amido em açúcares fermentescíveis (sacarificação). Como mencionado anteriormente, a máxima produção de enzimas ocorre até o quarto dia de germinação; portanto, para esses tipos de maltes, 4 a 5 dias de germinação são suficientes. No caso de produção de maltes especiais, o tempo de germinação pode variar de 3 a 8 dias, dependendo das características que se deseja obter, pois são utilizados em pouca quantidade com a finalidade de alterar as características organolépticas da cerveja (BRIGGS, 1998; KUNZE, 2004; MALLETT, 2014).

Atingindo o objetivo da germinação, que é a modificação do grão, o malte verde é transferido para a etapa de secagem.

2.6.3 Secagem

O objetivo principal da secagem é cessar as reações que estão ocorrendo, de modo que as características obtidas sejam fixadas, sem danificar o sistema enzimático formado. Sendo assim, o malte verde é colocado em estufas, de modo que a passagem de ar quente entre a massa de grãos promova a perda de água. No entanto, com a redução do teor de umidade, a atividade enzimática também se reduz (PORTO, 2011; PINTO, 2013; TANCREDO, 2015).

Segundo Newman e Newman (2008), a secagem do malte verde pode ocorrer em quatro etapas atingindo teores de 23%, 12%, 6% e 3% de umidade, respectivamente. A primeira etapa, chamada de secagem livre, ocorre a 50 °C – 60°C, e o teor de umidade atinge o valor de 23%. A segunda etapa é chamada de intermediária, na qual o teor de umidade chega a 12%. Segundo a Brissart *et al.*, (2000), essas duas etapas são resumidas em uma única, na qual toda a água livre no corpo da cevada é perdida. A água que se encontra na superfície do grão e entre os tecidos, não estando ligada a nenhum tipo de composto, é transferida para o fluxo de ar. A terceira etapa é a secagem mais lenta, visando remover as moléculas de água que estão ligadas aos compostos do grão, reduzindo, então, o teor de umidade de 12% para aproximadamente 6%. A última etapa é chamada de cura e é responsável por atribuir as características sensoriais do malte. Na cura, a temperatura é elevada para 80 °C – 110°C, e a umidade é reduzida, podendo atingir até 2%, dependendo do tipo de malte produzido (NEWMAN; NEWMAN, 2008; PINTO, 2013; BRAZIL, 2015).

Além da redução do teor de umidade, a secagem do malte também é responsável por interromper as transformações que ocorrem durante a germinação (modificação do endosperma), pela inativação do sistema enzimático e ainda pela formação de substâncias corantes e aromatizantes (BRAZIL, 2015). Com a exposição a altas temperaturas, boa parte das enzimas perde sua eficiência, causando redução no teor de enzimas do malte. A Tabela 3 traz a temperatura de inativação de algumas dessas enzimas. Devido a essa inativação, empregam-se inicialmente baixas temperaturas para a secagem de malte e alto fluxo de ar, para que não sejam expostas por tempo demasiado (PORTO, 2011).

Tabela 3 – Temperatura de inativação de algumas enzimas de inativação.

Enzimas	Temperatura de desnaturação	
α-amilase	Superior a 80 °C	
β-amilase	65 − 70 °C	
β-glucanase	55 – 60 °C	
Proteases	55 °C	

Fonte: adaptado de Pinto (2013).

Anteriormente, já foi mencionado que existem diversos tipos de maltes, e as diferenças entre eles são causadas pelas suas características de sabor, aroma e cor. Além do tempo de germinação, parâmetros como tempo e temperatura de secagem podem alterar essas características. Períodos longos de germinação geram mais aminoácidos e açúcares, os quais são reagentes para as reações responsáveis pela coloração do malte e, consequentemente, da cerveja. Essas reações são conhecidas como reações de *Maillard* e reações de caramelização. Além de alterarem a cor do malte, modificam também o sabor e o aroma. Nas reações de *Maillard*, os aminoácidos reagem com os açúcares, formando melanoidinas, que são os compostos corados (PINTO, 2013; PINHEIRO, 2016).

Durante a secagem, também são formados compostos indesejáveis, como o dimetil sulfeto (DMS) e as nitrosaminas. Esses compostos afetam negativamente as cervejas, o DMS proporciona aroma de vegetais cozidos, enquanto as nitrosaminas são substâncias cancerígenas. NO_x são formados quando a combustão ocorre na presença de nitrogênio, que, por sua vez, reagem com as aminas livres, formando as nitrosaminas. Portanto, sua formação é limitada utilizando gás de arraste que não contenha nitrogênio. O DMS é um composto volátil, eliminado, portanto, durante a secagem, e o seu precursor é o S-metilmethionina, que não é volátil, mas se degrada a temperaturas elevadas (MALLETT, 2014; TANCREDO, 2015; PINHEIRO, 2016).

2.7 USOS E ESTUDOS DE CEVADA E MALTE

A cevada é um dos cereais mais versáteis que existem e o seu maior valor agregado é a produção de malte. No entanto, menos de 20% da produção mundial da cultura é destinada à malteação. O maior uso da cevada se dá como ração animal, competindo com o milho e o sorgo, que possuem um custo menor. O cereal pode ser usado na alimentação de aves, suínos, ovinos, caprinos, bovinos e até mesmo de peixes (BLAKE *et al.*, 2011). Uma atenção especial se dá aos bovinos, tanto para o gado de corte quanto para as vacas leiteras. A utilização de cevada provoca o aumento de peso desses animais, e também aumenta a produção de leite e do seu teor de gordura, gerando maior retorno financeiro para o produtor (RURAL

PECUÁRIA, 2010). Visando reduzir o custo da nutrição animal, foi empregada a utilização de bagaço de cevada, como relatam Aliyu e Bala (2011). Segundo os autores, os resultados da utilização de bagaço de cevada (em comparação à cevada) são similares e ainda geram uma finalidade para esse material, que é produzido nas cervejarias.

Além da utilização como ração animal, a cevada também é aplicada na alimentação humana, e é responsável por aproximadamente 5% da produção mundial. O grão pode ser misturado com outros cereais e empregado em diversos produtos alimentares, podendo alterar a textura, o sabor, o aroma e o valor nutricional destes (BLAKE *et al.*, 2011). Na panificação, a substituição de parte da farinha de trigo por farinha de cevada é mais saudável devido ao aumento do conteúdo de fibras (NEWMAN; NEWMAN, 2008). Por exemplo, diversos estudos demonstraram a redução do colesterol LDL e do índice glicêmico no sangue pelo consumo de fibras que contenham β-glucana (MÄLKKI, 2004; BRENNAN; CLEARY, 2005; NEWMAN; NEWMAN, 2008; ULLRICH, 2011; MOURÃO, 2012; ZIELKE *et al.*, 2018). Blake *et al.* (2011) ainda documenta que as β-glucanas podem reduzir a incidência de câncer de cólon e também a obesidade.

A maioria dos agricultores prefere cultivar cevada para malte à cevada de ração, devido à diferença de preço (ULLRICH, 2011). O malte além de ser usado para a produção de cerveja, também é utilizado para a produção de bebidas destiladas e álcool industrial – combustível (JACQUES *et al.*, 2003; RUSSELL *et al.*, 2003). Das bebidas destiladas mais comuns, o uísque pode ser produzido exclusivamente com malte, ou ainda com outros materiais, mas existem outros tipos de bebidas alcoólicas, como o shochu, bebida japonesa, e o shoju, na Coréia. O etanol combustível é produzido pela fermentação alcoólica dos açúcares fermentescíveis que são formados pela ação das enzimas α-amilase e amiloglucosidades. No entanto, a produção de etanol atinge níveis mais baixos do que quando produzidos de cana-deaçúcar ou milho (BLAKE *et al.*, 2011). Do malte, também é possível obter xaropes e extratos, produzidos por extração com água quente (como na produção de cerveja) – depois, o extrato é concentrado, ou seco e pulverizado para formar um pó (NEWMAN; NEWMAN, 2008).

Os estudos realizados com a cevada visam à produção de novas cultivares, como já citado, de modo que a cultura da cevada possa ser adaptada a diversas regiões e promover maior rendimento para o produtor, dependendo das condições de adubação e cultivo (CORDEIRO, 2006; FRANÇA, 2007; DINIZ, 2007; MONTEIRO, 2012; AMABILE, 2013; SAYD, 2014). Por outro lado, existem as pesquisas de processamento, que visam otimizar o processo de malteação, reduzir do tempo de preparo e os materiais indesejáveis, e aumentar a produção de açúcares fermentescíveis e de enzimas. Pinheiro (2016), por exemplo, usou

tempos de maceração de 4 horas para atingir 40% de umidade, enquanto os procedimentos normalmente usados têm uma média de 32 horas durante e mesma etapa (MALLET, 2014; MONTANUCI *et al.*, 2014). Brazil (2015), em contrapartida, aplicou β-glucanase nos grãos de cevada durante a malteação. Os resultados obtidos foram a redução do teor de β-glucanas e da viscosidade do mosto. Briggs (1963), Macnicol e Jacobsen (2001) e Xie *et al.* (2007) estudaram a utilização de ácido giberélico para aumentar a produção de enzimas durante a germinação.

Atualmente, na área de produção de cerveja, tem-se buscado a otimização de processo, a ampliação e a diversificação de mercado e a redução de custos, entre outros objetivos. Diversos estudos têm como foco a produção de cerveja para uma população restrita, os celíacos, ou seja, estuda-se a produção de cerveja sem glúten (HAGER et al., 2014). Esse tipo de cerveja pode ser feita totalmente a partir de cereais que não contenham glúten (MACCAGNAN, 1999; KLISCH, 2007; BACK et al., 2006, BRASIL, 2016), mas também pode ser feita com cereais que contenham glúten – neste tipo, são adicionadas enzimas que proporcionam a degradação do glúten (MITEA et al., 2008; CAPUTO et al., 2010; VEIT, 2014). Outros estudos buscam a otimização do processo desenvolvendo novos equipamentos (ZHENGRONG, 2018; FENG, ZHIQIANG, 2018; HAOYUAN, 2018; PALAGI, 2018), ou a utilização de enzimas exógenas, isto é, α- e β-amilases produzidas por fungos e bactérias para promover uma melhor sacarificação do mosto (degração do amido em açúcares fermentescíveis) (STEINER et al., 2011; EVANS et al., 2014; VAN DONKELAAR et al., 2016). Por outro lado, existem as pesquisas voltadas para a redução de custos, como a adição de adjuntos, isto é, cereais não maltados que podem ser adicionados à cerveja, como milho, sorgo, e milheto, que possuem um valor de comercialização menor do que o preço da cevada (D'AVILA, 2012; BRASIL, 2016; REIS, 2016; GUIMARÃES, 2017). Também existem pesquisas voltadas para a utilização de novos adjuntos, como pinhão, fécula de batata, quinoa, e novos materias, a fim de diversificar aromas, sabores e cores (MATOS et al., 2005; HENDGES, 2014; BATISTA, 2014). Neves (2018), por exemplo, realizou a maturação de cerveja com diferentes tipos de madeira e avaliou os compostos voláteis associados que modificaram as características organolépticas dos materiais.

Nesse sentido, a pesquisa desenvolvida por esse trabalho visa avaliar as cevadas irrigadas cultivadas na região do Cerrado brasileiro para utilização na indústria cervejeira, por meio da malteação. Assim como os demais pesquisadores aqui citados, o intuito é demonstrar que a matérias-primas utilizadas em um mercado consolidado, pode provir de diferentes regiões. No caso do Cerrado brasileiro, a localidade traz a facilidade de destruição do produto,

sendo essa uma região central, além de ser de amplo desenvolvimento, pela produção e qualidade dos cereais.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAIS

O objetivo principal deste trabalho é produzir malte cervejeiro a partir de cevada irrigada cultivada na região do Cerrado brasileiro. Desse modo, por meio de análises físico-químicas e biológicas, avalia-se o potencial de produção do cereal na região, visando descentralizar o cultivo e a manufatura, que são realizados apenas no sul e sudeste do país.

3.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar e qualificar dez variedades de cevada cultivadas na região, sendo estas:
 BRS Brau, BRS Korbel, BRS Cauê, BRS Itanema, BRS Manduri, BRS Quaranta,
 ANAG 01, ANA 02, Danielle e ABI Voyager;
- Comparar metodologias de quantificação de proteínas existentes Kjeldahl clássico,
 Kjeldahl por injeção em fluxo (FIA), Dumas e análise elementar de CHN com enfoque em alimentos;
- Com base nos resultados, selecionar as cultivares de maior potencial para a produção de malte, entre as apresentadas;
- Desenvolver uma metodologia adaptada para a malteação tomando como base as características importantes das cevadas reportadas, visando posterior adequação para o processo industrial;
- Identificar, minimizar e levantar possíveis soluções para os problemas detectados durante o processo de malteação;
- Caracterizar e qualificar os maltes produzidos, visando à utilização na produção de cerveja.

CAPITULO 1 – COMPARAÇÃO DE MÉTODOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo de cerveja chega a 60,7 litros por pessoa. Desde 2017, o Brasil ocupa o posto de terceiro maior produtor – e, consequentemente, consumidor de cerveja – do mundo (CERVBRASIL, 2016; MARTINS *et al.*, 2018). Na sua produção, a utilização de matérias-primas de qualidade é indispensável, uma vez que seus componentes são transferidos para o mosto e, consequentemente, para o produto final (PORTO, 2011; EDNEY, 2012; BRASIL, 2013). O insumo de maior proporção utilizado no processamento é o malte de cevada – a Intrução Normativa nº 54 de novembro de 2001 deixa claro que somente 45% do extrato primitivo de malte pode ser substituído por adjuntos (BRASIL, 2001) – e demanda cevada com propriedades específicas para a cerveja, sendo elas, por exemplo, tamanho de grãos, teor de cascas e, principalmente, conteúdo de amido e proteínas. Sabe-se que quanto maior o teor de proteínas, menor o teor de amido do grão (FOX, 2008). Sendo assim, conforme a legislação brasileira – Portaria 691 de 1996 –, a cevada cervejeira deve conter baixo teor de proteínas, cujo limite de tolerância máximo é de 12% (BRASIL, 1996).

O alto conteúdo proteico em cevadas cervejeiras prolonga o processo de malteação e afeta negativamente as propriedades da cerveja. Grãos com essa característica são normalmente mais rígidos, pois as proteínas da cevada estão fortemente ligadas aos grânulos de amido e às paredes celulares do endosperma, o que causa a sua compactação (BRENNAN et al., 1996). A alta dureza desses grãos impede a distribuição de água e de enzimas através do endosperma, ou seja, prolonga o processo de malteação, pois retarda as degradações e modificação do endosperma (PSOTA et al., 2007; PIACENTINI, 2015). Na produção de cerveja, por outro lado, são causadoras de elevada viscosidade e turbidez, tempo de prateleira reduzido, e, principalmente, baixo rendimento de processo (MOLINA-CANO et al., 1997; ZHANG et al., 2001; SA; PALMER, 2004; FOX, 2008; SCOBIE; JONES, 2009; JAMAR et al., 2011; FANG et al., 2019). Portanto, determinar com precisão o conteúdo proteico da cevada e, posteriormente, do malte, é muito importante para prever e propor soluções a fim de reduzir perdas econômicas.

Diversas metodologias são utilizadas para determinar o teor de proteínas, sendo baseadas em diferentes procedimentos analíticos para a quantificação, de forma indireta ou direta. A determinação direta é feita por meio da metodologia de resíduos de aminoácidos, que são obtidos pela hidrólise das ligações peptídicas que os unem. No entanto, como

desvantagens, o método demanda alto investimento, além de os procedimentos de hidrólises poderem destruir completamente alguns aminoácidos, tornando o método indisponível na maioria dos laboratórios (MÆHRE *et al.*, 2018).

Por outro lado, as determinações indiretas são baseadas em procedimentos que promovem reações com os grupos funcionais das proteínas, ou no conteúdo de nitrogênio da amostra. Todavia, alguns desses métodos dependem da extração das proteínas antes da realização da análise, como os procedimentos espectrofotométricos; entre eles, Lowry e Bradford. Ou seja, a eficiência da extração é um fator determinante para o sucesso desses métodos. Os tecidos são expostos a solventes que promovem a liberação das proteínas intracelulares, mas sabe-se que esses protocolos são eficientes para as células sem parede celular (animais). Quando se trata de células vegetais (com parede celular), o rendimento é reduzido. Portanto, o uso desses procedimentos para fins alimentícios não é recomendado (SIMONNE, et al., 1997; MÆHRE et al., 2018).

As metodologias oficiais mais utilizadas para a quantificação de proteínas em alimentos são Kjeldahl e Dumas (JUNG et al., 2003; CHANG; ZHANG, 2017). Ambos os procedimentos são baseados na quantificação de nitrogênio nas amostras. O método Dumas, ou método de combustão de nitrogênio, foi proposto em 1831, e proporciona a conversão de todas as formas do elemento em NO_x pelo uso de temperaturas entre 800°C e 1.000 °C, com posterior redução desses compostos em gás N₂ e detecção por condutividade térmica. Esse processo ocorre em menos de 5-6 minutos e evita o uso de produtos químicos corrosivos, mas todas as fontes de nitrogênio são medidas, incluindo as suas formas inorgânicas, como os nitratos, os nitritos e os ácidos nucléicos, ocasionando superestimação do conteúdo proteico (JUNG et al., 2003; GARCIA et al., 2015; KRAUSOVÁ et al., 2018).

O método Kjeldahl, por sua vez, foi proposto em 1833 e, foi projetado originalmente para a indústria cervejeira, justamente para acompanhar as mudanças nas proteínas do grão durante a malteação e a fermentação (KJELDAHL, 1833; SÁEZ-PLAZA *et al.*, 2013a). O método atualmente possui diversas adaptações, visando melhorar a eficiência do processo e ainda reduzir os riscos e resíduos gerados, pois é dependente de múltiplas etapas (ANEXO III). Inicialmente, a amostra é submetida à digestão com H₂SO₄ concentrado em presença de um catalisador, normalmente CuSO₄, na qual o nitrogênio orgânico é convertido em (NH₄)₂SO₄. Depois, realiza-se a etapa de destilação, na qual o (NH₄)₂SO₄ é tratado com NaOH, proporcionando a liberação de NH₃, que é coletada em uma solução de H₃BO₃, formando íons boratos que posteriormente são titulados com uma solução padrão de HCl. Portanto, o uso dessa metodologia abre muitas oportunidades para erros, devido às inúmeras

etapas, além de ser um procedimento demorado e de gerar resíduos que causam danos à saúde humana e que contribuem com a poluição ambiental (BUCKEE, 1994; JUNG *et al.*, 2003; SÁEZ-PLAZA *et al.*, 2013a; GARCIA *et al.*, 2015).

Após a obtenção do teor de nitrogênio na amostra, o conteúdo de proteínas é estimado multiplicando o resultado por um fator padrão de 6,25, que não está relacionado a nenhum alimento específico (BRIGGS, 1998; THOMPSON *et al.*, 2002). O valor de 6,25 é um fator de conversão de nitrogênio/proteína (N:P) que assume que 1 kg de proteína animal ou vegetal contém 160 g de nitrogênio (SRIPERM, 2011). No entanto, mesmo sendo amplamente aceito, alguns autores condenam esse número, pois o conteúdo de nitrogênio nos diversos aminoácidos existentes pode variar consideravelmente, o que ocasiona um erro de até 20% no conteúdo de proteínas (MARIOTTI *et al.*, 2008). Portanto, além dos erros associados aos próprios métodos, ainda há variação devido ao uso do fator de conversão.

Alternativamente, outras metodologias têm sido testadas para reduzir a variação na quantificação de proteínas. Por exemplo, Krausová *et al.* (2018) obtiveram resultados condizentes com os métodos clássicos utilizando análise por ativação neutrônica instrumental em amostras de cevada e malte. Mæhre *et al.* (2018), no entanto, ainda recomendam o uso da determinação do conteúdo proteico de alimentos através da análise de resíduos de aminoácidos, quando possível. Por outro lado, alguns autores sugerem a adaptação das metodologias clássicas. Garcia *et al.* (2015) utilizaram um analisador elementar que determina conjuntamente o conteúdo de C, N, H e até mesmo S, através da combustão das amostras, atuando de modo similar ao método Dumas. Outras literaturas afirmam que a análise por injeção em fluxo (FIA) é uma excelente ferramenta para a automação da metodologia Kjeldahl (WATSON; GALLIHER, 2001; SÁEZ-PLAZA *et al.*, 2013b).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi comparar o uso dos métodos Kjeldahl e Dumas em amostras de cevada cultivadas em diversas localidades. Os procedimentos foram realizados em suas formas clássicas, e também em suas adaptações, utilizando a análise FIA e o analisador elementar de CHN.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

2.1.1 Amostras

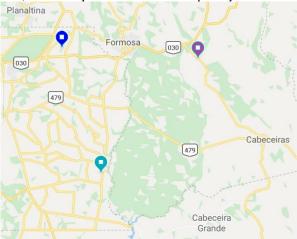
Foram estudadas quatro amostras, semeadas nos anos de 2016 e 2017, sendo três delas cultivadas na região Centro-Oeste do país, em propriedades diferentes Fazenda Nativa (DF), Fazenda Italiaia (GO) e Fazenda Esperança (DF) – e fornecidas pelos seus proprietários (Figura 10). A quarta cevada foi doada pela Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária (FAPA), que é uma das cadeias produtivas da Cooperativa Agrária (cooperativa agroindustrial localizada no distrito de Entre Rios, em Guarapuava – PR). A Tabela 4 apresenta à nomenclatura atribuída às amostras.

Tabela 4 – Genótipos utilizados e nomenclatura atribuída de acordo com o local de cultivo.

Genótipo	Local	Nomenclatura atribuída
BRS Brau	Fazenda Itatiaia – GO	CFI
BRS Brau	Fazenda Nativa – DF	CFN
BRS Cauê	Fazenda Esperança – DF	CFE
BRS Cauê*	-	CP

^{*}A informação fornecida sobre a cevada padrão foi apenas quanto à cultivar em questão.

Figura 10 – Locais de cultivo visualizados no Google Maps, sendo a marcação verde a Fazenda Nativa, a marcação roxa a Fazenda Itatiaia, e a marcação azul a Fazenda Esperança.



Fonte: Google Maps

2.1.2 Reagentes

- Hidróxido de sódio P.A (NaOH, Dinâmica);
- Solução receptora indicadora ácido bórico 0,2% (m/v) (H₃BO₃, Dinâmica); verde de bromocresol, vermelho de metila;

- Ácido sulfúrico P.A (H₂SO₄, Dinâmica);
- Mistura catalítica Sulfato de cobre (CuSO₄, Dinâmica) e sulfato de potássio (K₂SO₄, Dinâmica) – 1:10;
- Peróxido de hidrogênio 35% (H₂O₂, Dinâmica);
- Tartarato de sódio e potássio 99% (KNaC₄H₄O₆·4H₂O, Sigma-Aldrich);
- Fosfato de sódio dibásico heptahidratado (Na₂HPO₄.7H₂O, Sigma-Aldrich);
- EDTA dissódico (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈.2H₂O), Sigma-Aldrich);
- Hipoclorito de sódio 5,25% (NaClO, Sigma-Aldrich);
- Salicilato de sódio 99,5% (C₇H₅NaO₃, Sigma-Aldrich);
- Nitroprussiato de sódio dihidratado 99% (Na2[Fe(CN)₅NO].2H₂O, Sigma-Aldrich).

2.1.3 Equipamentos

- Bloco digestor (MARCONI);
- Destilador de nitrogênio com três pontas (TECNAL TE 0365);
- Bureta automática (METROHM 876 dosimat plus);
- FIA System (LACHAT QuikChem 8500 Series 2);
- Autoamostrador (LACHAT XYZ autosampler, ASX 520 series Omnion);
- Analisador elementar de CHNS (PERKIN ELMER 2400 Series II CHN/S);
- Ultramicro balança (PERKIN ELMER AD6);
- Moinho de facas (THOMAS Modol e Wiley® Mill);
- Dumas (LECO FP-528);
- Balança analítica (SARTORIUS).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Métodos por Combustão

Para os procedimentos por combustão, as amostras foram homogeneizadas e trituradas. Em ambos os métodos, a abertura da amostra foi feita durante o procedimento, por combustão. Os gases liberados foram, então, coletados, separados por cromatografia e detectados por um condutor de condutividade térmica. Os métodos por combustão utilizados foram o método Dumas (EBC 4.3.2) e a análise elementar de CHN.

2.2.2 Quantificação de nitrogênio total - CHN

A quantificação através de análise elementar foi realizada no Analisador Elementar da Perkin Elmer 2400 Series II CHN/S da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília (UnB). Sendo assim, foi realizada a calibração do equipamento utilizando um branco e uma amostra padrão de acetanilida. As amostras foram então trituradas (aproximadamente 50 g) em um moinho de facas (THOMAS). Para a pesagem das replicatadas, utilizou-se uma ultramicro balança (Perkin Elmer) e folhas de estanho. Em cada uma das folhas pesou-se 0,0020 ± 0,0002 g e iniciou-se o procedimento. Os resultados fornecidos pelo equipamento são os percentuais de C, H e N para base úmida. A conversão para base seca é feita com a Equação 1, e a conversão para teor de proteína utilizou-se do fator 6,25, como mostrado na Equação 2.

$$Ntotal \% = \frac{Nitrog \hat{e}nio \ total \ (\%) \ x \ 100}{base \ seca \ (\%)}$$
(Equação 1)

Proteína total
$$\% = Ntotal \% x 6,25$$
 (Equação 2)

Em que:

100 = conversão para porcentagem;

Nitrogênio total % (m/m) = teor de nitrogênio para as amostras úmidas;

N total % (m/m) = teor de nitrogênio para as amostras secas;

Base seca % = massa da amostra menos o teor de umidade;

Proteína total % = teor de proteína da amostra.

2.2.2.1 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL – DUMAS

O teor de proteína foi realizada por combustão, de acordo com o método 4.3.2 do manual da EBC (2004). O equipamento utilizado foi um analisador de nitrogênio por combustão, baseado no princípio Dumas, e possui um detector de condutividade térmica (LECO). Para a realização das análises, foi necessário informar a umidade do material e o fator de conversão de 6,25¹. Depois, pesou-se 0,2 g de amostra em folha de estanho, que posteriormente foi fechada e colocada no equipamento.

-

¹ O valor de 6,25 é um fator de conversão de nitrogênio/proteína (N:P) que assume que 1 kg de proteína animal ou vegetal contém 160 g de nitrogênio (SRIPERM, 2011).

2.2.3 Métodos por digestão

As metodolgias realizadas que utilizam abertura de amostras por digestão foram a Kjeldahl e a análise por injeção em fluxo (FIA). As análises foram realizadas nas dependências da Embrapa Cerrados e seguiram os procedimentos dispostos pela empresa. Sendo assim, a abertura de amostras foi realizada por meio de digestão sulfúrica para os dois métodos. Posto isso, o bloco digestor (MARCONI) foi ajustado para atingir a temperatura de 350 °C, e doze tubos de vidro de 100 mL foram selecionados para a digestão para o Kjeldahl (digestão em triplicata). Além disso, quatro tubos de vidro com marcação para 50 mL com a finalidade de efetuar a digestãos para o FIA (uma única digestão).

As amostras (aproximadamente 50 g) foram trituradas, em um moinho de facas (THOMAS), e em cada um dos tubos foi colocado 0,200 ± 0,001 g do material, juntamente com 0,200 ± 0,001 g de mistura catalítica e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Colocou-se a vidraria no bloco disgestor quando este atingiu a temperatura estabelecida, ali permacendo por 50 min. Os tubos foram resfriados a temperatura ambiente, e adicionou-se 1 mL de H₂O₂, sendo novamente colocados no bloco digestor a 350°C por 30 min (ou até que as soluções adiquirissem uma coloração clara). Posteriormente, as vidrarias permaneceram em temperatura ambiente para resfriar, e os doze tubos simples foram encaminhados para a análise de Kjeldahl, enquanto os quatro tubos foram enviados para o FIA.

2.2.3.1 QUANTIFICAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL – KJELDAHL

Em cada tubo, foi acrescentado 10 mL de água destilada e 25 mL de uma solução de NaOH 13 mol/L (saturada). Os tubos foram conectados no destilador de nitrogênio com três provas (TECNAL), onde ocorre o aquecimento das soluções promovendo liberação de NH₃, que é condensada e coletada em Erlenmeyers contendo 10 mL da solução receptora indicadora (H₃BO₃). Considerou-se o fim do processo quando a solução receptora que inicialmente era rósea adiquiriu a coloração azul-esverdeada (borato de amônio – NH₄H₂BO₃), podendo, então, seguir para a etapa de titulação. O NH₄H₂BO₃ foi então titulado com uma solução padrão de H₂SO₄ (0,02466 mol/L) até que fosse obtida a viragem do indicador, de modo que a solução tornou-se novamente rósea. O cálculo de N total foi feito de acordo com a Equação 3. Depois foi feita a correção para base seca usando a Equação 4, pois as amostras usadas continham umidade. Por fim, utilizou-se a Equação 5 para a conversão para o teor de proteína:

$$Nitrog\hat{e}nio\ total\ \%\ (^m/_m) = \frac{(Va - Vb)\ x\ 28\ x\ 100\ x\ C}{1000\ x\ P} \tag{Equação 3}$$

$$Ntotal \% = \frac{Nitrog \hat{e}nio \ total \ (\%)x \ 100}{base \ seca \ (\%)}$$
(Equação 4)

Proteína total
$$\% = Ntotal \% x 6,25$$
 (Equação 5)

Em que:

Va = volume de ácido usado na titulação;

Vb = volume de ácido usado para a titulação do branco;

C = concentração (mol/L);

100 = conversão para porcentagem;

1000 = conversão de litros para militros;

Nitrogênio total % (m/m) = teor de nitrogênio para as amostras umidas;

Base seca % = massa da amostra menos o teor de umidade;

N total % (m/m) = teor de nitrogênio para as amostras secas;

Proteína total % = teor de proteína da amostra.

2.2.3.2 QUANTIFICAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL – FIA

Em um primeiro momento, foram preparados os reagentes que seriam usados na análise, sendo estes: solução de NaClO, reagente de cor (salicilato de sódio, nitroprussiato de sódio dihidratado), tampão de pH 8,5 (hidróxido de sódio, tartarato de sódio e potássio, fosfato de sódio dibásico heptahidratado, EDTA dissódico), solução de arraste (NaOH) e diluente (H₂SO₄ diluido). O equipamento foi calibrado de acordo com o procedimento da Embrapa.

Em cada tubo proveniente da digestão adicionou-se água destilada até que se atingisse a marca de 50 mL. Para a realização da análise, utilizam-se três tubos de ensaio de 10 mL por amostra (procedimento em triplicata), e em cada tubo adicionou-se a solução da amostra. Com o auxílio do amostrador automático (LACHAT), a amostra foi introduzida no sistema e arrastada pela solução de NaOH. Posteriormente, entrou em contato com os reagentes um a um, de acordo com a metodologia QuickChem® Method 13-107-06-2-G, adaptada e operada nos laboratórios da Embrapa.

2.2.4 Análises Estatísticas

Visando estimar a precisão experimental e validar os resultados obtidos, determinouse inicialmente o desvio-padrão (s, Equação 6), o coeficiente de variação (CV%, Equação 7), e o intervalo de confiança (IC, Equação 8) entre as replicatas de cada análise.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \overline{x})^2}{n-1}}$$
 (Equação 6)

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$
 (Equação 7)

$$IC_{95\%} = \bar{x} \pm t_{95_{GL}} x \frac{s}{\sqrt{n}}$$
 (Equação 8)

Onde:

 \overline{x} = média das replicatas;

n = número de replicatas.

t_{95GL} = valor tabelado da distribuição t-Student bicaudal com 95% de confiança. Neste caso, utilizou-se o valor de 4,303, pois o grau de liberdade (GL) era igual a 2.

Posteriormente, realizou-se a análise de variância dos dados e o agrupamento das médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, através do programa Genes (SCOTT; KNOTT, 1974; CRUZ, C. D., 2013). A análise de variância foi feita individualmente para cada método, utilizando o modelo estatístico de acordo com a Equação 9. A Tabela 5 apresenta uma representação de como é realizada a análise de variância, levando em consideração todas as fontes de variação (FV):

$$Yij = \mu + Gi + Bj + \epsilon ij$$
 (Equação 9)

Onde:

Yij = valor observado relativo da característica na j-ésima repetição dentro do iésimo método;

 μ = média geral;

Gi = efeito do i-ésimo método (i = 1, 2,..., g);

Bj = efeito da j-ésima repetição (j = 1,2,..., r);

εij= erro aleatório (fatores não controlados).

Tabela 5 – Representação da análise de variância do modelo.

Análise Individual						
FV GL QM E (QM) F						
Repetições (R)	r – 1	QMr	$\sigma^2 + p\sigma^2_r$			
		QMp	$\sigma^2 + p\phi_p$	QMp/QMe		
Erro	(r - 1)(p -1)	QMe	σ^2	_		

Em que:

FV = fontes de variação;

GL = graus de liberdade;

QM = quadrado médio;

E(QM) e σ^2 = erro associado ao quadrado médio;

F = teste F:

 $p/P = m\acute{e}todos;$

r = repetições;

e = erro;

 ϕ_p = coeficiente quadrático do método.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da quantificação de proteínas para as quatro amostras, empregando os quatro métodos, foram dispostos na Tabela 6.

Tabela 6 - Quantificação de proteínas através dos métodos por digestão, Kjeldahl e FIA, e dos métodos de

combustão, Dumas e análise elementar de CHN.

Aı	mostras	Kjeldhal	FIA	CHN	Dumas
	Média (%)	$9,19 \pm 0,23$ a	$10,65 \pm 0,50$ a	$9,80 \pm 1,49 \text{ a}$	10,42 a
CP	S	0,09	0,20	0,60	-
	CV (%)	1,02	1,88	6,11	-
	Média (%)	$12,31 \pm 0,17$ b	$13,76 \pm 0,76$ a	$13,84 \pm 1,51$ a	14,27 a
CFE	S	0,07	0,31	0,61	-
	CV (%)	0,55	2,22	4,40	-
	Média (%)	$15,36 \pm 0,16$ b	$16,58 \pm 0,50$ a	$15,70 \pm 3,19 \text{ b}$	17,43 a
CFI	S	0,06	0,20	1,28	-
	CV (%)	0,42	1,21	8,17	-
	Média (%)	$15,60 \pm 0,36$ b	$17,03 \pm 0,41$ a	$17,22 \pm 2,32$ a	17,11 a
CFN	S	0,15	0,16	0,93	-
	CV (%)	0,93	0,96	5,43	-

Nota: * as letras dos agrupamentos referem-se apenas às médias e não aos desvios-padrão (s).

As amostras, em sua maioria, foram cultivadas na região do Cerrado brasileiro. Portanto, esperavam-se resultados a cima do valor estipulado na normativa 691/96, que é de 12% (BRASIL, 1996). A amostra CP foi utilizada como padrão, por ser cultivada na região sudeste do país e possuir caráter comercial. Sendo assim, foi a única que se enquadrou na exigência proposta (12%), com valores entre 9,19% e 10,65%. Os outros três materiais obtiveram resultados maiores que o exigido pela legislação, como esperado, variando de 12,31% a 17,43% dependendo do local de produção e do método de quantificação.

Foi possível observar a oscilação dos resultados entre as diferentes metodologias. Percebe-se que FIA, Kjeldahl e Dumas obtiveram variações menores entre os valores, sendo até mesmo estatisticamente semelhantes se considerada a incerteza da medição e o teste de Scott-Knott a 5% de significância. As três metodologias para as amostras CP, CFE e CFN não apresentaram formação de mais de um agrupamento pelo teste de Scott-Knott. A CFI, por sua vez, teve a formação de um agrupamento diferente, no qual se encontra o resultado do CHN de 15,70%, enquanto os outros dois valores foram de 16,58% e 17,43% para os procedimentos FIA e Dumas, respectivamente. Ainda sobre esse resultado, o seu coeficiente de variação (CV) foi o maior obtido no estudo, com 8,17%.

Percebe-se que os coeficientes de variação mais elevados foram apresentados pela análise elementar de CHN, revelando uma imprecisão da metodologia. Atribui-se tal variação ao tamanho das partículas, à amostragem e à variação no peso da amostra utilizada em cada equipamento. A composição da cevada é extremamente heterogênea, variando entre os próprios grãos, o que torna a amostragem e o tamanho das partículas fatores determinantes para a obtenção de resultados mais precisos (BRIGGS, 1998; SMITH; TABATABAI, 2004; RUTHERFORD *et al.*, 2008). No entanto, para as análises por digestão, a precisão foi elevada, uma vez que os resultados de desvio-padrão foram relativamente baixos (0,06-0,31). Por outro lado, obteveram-se desvios mais elevados para o CHN. Sendo assim, essa variação não foi atribuída aos erros de preparo de amostra, uma vez que o procedimento foi realizado para todas as metodologias pelo uso de um quarteador do tipo Jones e, posteriormente, as amostras foram moídas, visando maior homogenização. Levou-se em consideração o tamanho das partículas utilizadas para a realização dos procedimentos.

Para a execução dos procedimentos, a moagem realizada dependeu do triturador disponível, obtendo-se partículas de até 2 mm. Tabatabai e Bremner (1970) conseguiram verificar o efeito da moagem na obtenção do percentual de carbono em solos, de modo que a precisão dos resultados aumentou com a redução do tamanho das partículas (apud SMITH; TABATABAI, 2004). Devido à recomendação do manual EBC, método 1.1, ser de partículas inferiores a 0,2 mm, conclui-se que uma moagem mais fina é necessária para obter resultados mais precisos. Observa-se também que os métodos Kjeldahl, FIA e Dumas, requerem pesos de aproximadamente 0,2 g de amostra para a sua realização, enquanto o CHN opera com pesos entre 0,002 g e 0,003 g, sendo uma possível fonte da variação. Em virtude do tamanho reduzido da amostra na análise elementar de CHN, quanto mais homogêneo o material, maior o grau de precisão nos resultados analíticos. Sendo assim, a redução do tamanho das partículas para uso dessa metodologia é essencial para evitar elevada heterogeneidade.

Considera-se também que a temperatura de realização do CHN foi de 925 °C, enquanto recomenda-se 1.050 °C para compostos vegetais, de modo que haja algum resíduo de nitrogênio não decomposto (SMITH; TABATABAI, 2004; RUTHERFORD *et al.*, 2008).

Considerando o Kjeldahl junto com as demais análises, os resultados, no geral, foram menores, chegando até 2% de variação para uma mesma amostra. Analisando os agrupamentos pelo teste de Scott-Knott, para a amostra de cevada CFI, a média foi agrupada juntamente com a obtida por análise elementar, com os valores de 15,36% e 15,70%, respectivamente. Para os materiais CFN e CFE, a metodologia Kjeldahl gerou um novo grupo de resultados, menores que os demais. Apenas a CP obteve todas as médias no mesmo grupo, ainda que o resultado de Kjeldahl tenha sido inferior (9,19%). A explicação para essa inferioridade deve-se à forma de apresentação do nitrogênio na amostra.

Sabe-se que no método Dumas todas as fontes de nitrogênio são medidas, incluindo as suas formas inorgânicas, como, os nitratos, os nitritos e os ácidos nucleicos. Devido à combustão, as formas do elemento são convertidas em NO_x, e são depois medidas na forma de N₂, o que causa superestimação do conteúdo proteico (GARCIA *et al.*, 2015). O mesmo ocorre para a análise elementar de CHN. Por outro lado, as formas inorgânicas do nitrogênio não são usualmente medidas por Kjeldahl, de modo que os resultados são inferiores aos métodos de combustão (KRAUSOVÁ *et al.*, 2018). Conclui-se, então, que no Kjeldahl clássico a inferioridade nas quantificações deve-se, à minimização da detecção de nitrogênio inorgânico. No entanto, esses compostos podem vir a ser quantificados caso não sejam adequadamente reduzidos na etapa de digestão, que pode ser o caso dos resultados da análise por injeção em fluxo (JUNG *et al.*, 2003). Considera-se também que o procedimento de FIA e Kjeldahl não empregam os mesmos reagentes nem as mesmas fontes de erro.

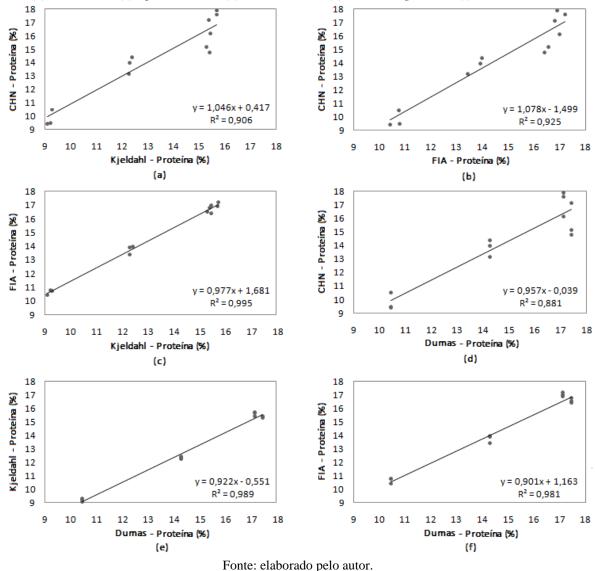
Com o intuito de avaliar a variação entre os métodos, realizou-se análise estatística dos resultados obtidos para uma mesma amostra, que foi reportada na Tabela 7. Também realizou-se análise de regressão e correlação (R²) entre os valores através de um gráfico de dispersão, uma vez que foram obtidos resultados entre 9,19% 17,43%, apresentados na Figura 11.

Tabela 7 – Comparação entre os métodos de quantificação de proteína.

	Média dos métodos (%)	S	CV (%)			
СР	$10,01 \pm 0,82$	0,65	6,53			
CFE	$13,54 \pm 1,04$	0,82	6,08			
CFI	$16,27 \pm 1,27$	1,01	6,20			
CFN	$16,74 \pm 1,01$	0,80	4,79			

Compreende-se, então, que há variação entre as metodologias, explicada pelas peculiaridades de execução de cada análise. As mudanças operacionais e as exigências específicas de cada um dos métodos promovem a variação entre os resultados, assim como os próprios erros associado a eles (erros aleatórios). No entanto, a maior fonte de variação, como já informado, deve-se principalmente ao preparo de amostras e à amostragem (erros sistemáticos), resultando em baixa homogeneidade operacional. Sendo assim, observa-se que a CFI obteve a maior divergência entre os valores, atingindo um desvio-padrão de 1,01, devido à variação do resultado do CHN (15,70, com s de 1,28), como esperado.

Figura 11 – Análise de regressão e correlação entre os valores de proteínas obtidos pelos métodos (a) Kjeldahl e CHN; (b) FIA e CHN; (c) Kjeldahl e FIA; (d) Dumas e CHN; (e) Dumas e Kjeldahl; e (f) Dumas e FIA.



Na figura 11, é observada uma correlação positiva entre os métodos, ainda que a maior discrepância na correlação tenha sido percebida entre a análise elementar CHN e o Dumas, com R² de 0,881, enquanto a maior correspondência, R² de 0,995, foi entre FIA e

Kjeldahl. Saha *et al.* (2012), obteve R² de 0,9985 para a dispersão dos resultados entre Kjeldahl manual e automatizado, ou seja, pouco acima do valor obtido neste estudo (0,995). Garcia *et al.* (2015), por sua vez, comparou Kjeldahl e Dumas, obtendo R² de 0,85, ou seja, inferior ao obtido, de 0,989. Sendo assim, mesmo com as variações apresentadas, devido à complexidade da matriz, os resultados foram avaliados como adequados, uma vez que as correlações foram elevadas, e os CVs foram inferiores a 10%. Mesmo que as incertezas associadas às análises tenham sido altas, considerando os CVs, a avaliação da qualidade experimental, para fins agronômicos, aceita como bons resultados (precisão) valores de coeficiente de variação de até 10% de acordo com Pimentel-Gomes (1990).

Desse modo, é possível adotar qualquer uma das metodologias, desde que suprida a sua necessidade e tomados os devidos cuidados, visando minimizar os erros operacionais. No entanto, recomenda-se o uso dos métodos de combustão quando possível, devido às suas vantagens. O custo desses equipamentos é elevado – superior a R\$ 190.000,00 (GARCIA *et al.*, 2015) –, mas o tempo de operação é inferior a 6 minutos, o preparo da amostra depende apenas da moagem da amostra, e sçao utilizados produtos químicos corrosivos que causam danos à saúde humana e ao meio ambiente.

4 CONCLUSÕES

A quantificação de proteínas é de extrema importância nas amostra de cevada, uma vez que o seu impacto na cadeia produtiva da cerveja é bastante relevante para o produto final. As metodologias testadas mostraram bons resultados de correlação entre si (maiores que 0,881), uma vez que as variações apresentadas foram associadas à complexidade da matriz e a erros sistemáticos (amostragem e preparo de amostra). Sendo assim, afirma-se que para a quantificação de proteínas de cevada, todas as metodologias apresentadas são válidas, do ponto de vista agronômico. No entanto, recomenda-se o uso dos métodos de combustão, por gerarem menos resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente, além de gerar resultados em até 6 minutos. Portanto, são os mais viáveis para a realização de análises de cevada e malte, tomando como base a rotina laboratorial de análise.

CAPITULO 2 – CARACTERIZAÇÃO E QUALIFICAÇÃO DAS CEVADAS CULTIVADAS NA REGIÃO DO CERRADO BRASILEIRO

1 INTRODUÇÃO

Para ser utilizada na produção de malte, a cevada deve conter propriedades físicas, químicas e biológicas específicas (PINTO, 2013). A Portaria nº 691 de 1996 (Norma de Identidade e Qualidade da Cevada para comercialização interna) foi criada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) visando suprir a necessidade de atualização e adequação dos padrões de qualidade da cevada para fins cervejeiros. Os procedimentos aos quais a norma em questão aderiu são os estabelecidos pela Convenção Europeia de Cervejaria (European Brewery Convention – EBC) (BRASIL, 1996). As análises realizadas são: classificação, teor de umidade, percentual de matéria estranha, teor de proteínas e poder germinativo.

Além dessas análises, existem outras que são tão importantes quanto, mas não são abordadas na lesgislação, pois são mais demoradas. São estas: peso de mil grãos, energia germinativa, sensibilidade à água, pré-germinados e β-glucanas, estabelecidas pela EBC ou pela Comissão para Análise de Produção de Cerveja na Europa Central (*Mitteleuropäische Brautechnische AnalysenKommission* – MEBAK). No entanto, em um primeiro momento, as análises devem ser rápidas, pois são realizadas logo após a colheita da cevada, com a finalidade de determinar a sua qualidade e então estabelecer o seu destino, que pode ser para semente, ração ou para malte, por exemplo. Definido o direcionamento do material, este pode seguir para o armazenamento ou diretamente para a linha de produção se preencher os padrões de qualidade, após a realização de todas as análises (NOVACK, 2010).

Diante do exposto, objetivou-se caracterizar e qualificar as cevadas cultivadas em duas regiões do Cerrado brasileiro, Cristalina (GO) e Perdizes (MG), realizando uma comparação entre elas, para avaliar as diferenças causadas pelas características edafoclimáticas dos ambientes. Por fim, verificar a viabilização da produção de malte com as cevadas analisadas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Amostras

As amostras de cevada utilizadas para desenvolver o projeto foram doadas pela Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária (FAPA) que é uma das cadeias produtivas da Cooperativa Agrária (Cooperativa Agroindutrial localizada no distrito de Entre Rios, em Guarapuava – PR). No total, foram 20 amostras, sendo essas de dez cultivares diferentes: BRS Brau, BRS Korbel, BRS Itanema, BRS Manduri, BRS Cauê, BRS Quaranta, Danielle, Abi Voyager, Anag 01, Ana 02. Os genótipos foram semeados em dois locais, (Figura 12), sendo o primeiro na área do Plano de Assentamento Dirigido do Distrito Federal (PAD – DF), na Fazenda Nativa, localizada na zona rural Buriti Vermelho (coordenadas: 15°54'17.917"S, 47°23'53.866"W e 892 metros de altitude); e o outro no Grupo Rocheto no municipio de Perdizes – MG (coordenadas: 19°21'17.77"S, 47°22'7.292"W e 1.034 metros de altitude). A Tabela 8 exibe à nomenclatura atribuída as amostras.

Figura 12 – Locais dos experimentos realizados pela FAPA visualizados no Google maps. Sendo a marcação mais ao norte a Fazenda Nativa e a marcação ao sul o Grupo Rocheto.



Fonte: Google Maps

A semeadura foi realizada no dia 10 de maio de 2017, em Perdizes, e entre os dias 12 e 14 de maio de 2017, no PAD – DF. Utilizaram-se na adubação 100 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio (KCl) e 137 kg ha⁻¹ da fórmula 11-32-00². Posteriormente, realizou-se adubação nitrogenada em cobertura, utilizando uréia como fonte, na dose de 50 kg ha⁻¹. A colheita foi realizada nos dias 8 e 9 de setembro de 2018, em Perdizes, e entre os dias 17 e 18 de setembro de 2018, no PAD – DF.

² Concentração expressa em porcentagem dos nutrientes: nitrogênio, fósforo e potássio – NPK – nos grânulos.

Tabela 8 – Genótipos utilizados e nomenclatura atribuída de acordo com o local de cultivo.

Genótipo	Nomenclatura atribuída	Local	Nomenclatura atribuída	
BRS Brau	C1	Cristalina	CC1	
DKS DI au	CI	Perdizes	CP1	
BRS Korbel	C2	Cristalina	CC2	
DKS KUI DEI	C2	Perdizes	CP2	
BRS Itanema	C3	Cristalina	CC3	
DKS Italiella	CS	Perdizes	CP3	
BRS Manduri	C4	Cristalina	CC4	
DKS Manuuli	C4	Perdizes	CP4	
BRS Cauê	C5	Cristalina	CC5	
DRS Caue		Perdizes	CP5	
BRS Quaranta	C6	Cristalina	CC6	
DKS Quaranta		Perdizes	CP6	
Danielle	C7	Cristalina	CC7	
Damene		Perdizes	CP7	
Ahi Voyogor	C8	Cristalina	CC8	
Abi Voyager	Co	Perdizes	CP8	
Anag 01	C9	Cristalina	CC9	
Anag VI	C9	Perdizes	CP9	
Ano 02	C10	Cristalina	CC10	
Ana 02	C10	Perdizes	CP10	

2.1.2 Reagentes

- Sulfato de cobre II (ICO) P.A (CuSO₄.5H₂O, Dinâmica);
- 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio P.A (C₁₉H₁₅ClN₄, Dinâmica);
- Ligações mistas de β-glucana (método McCleary) Megazyme;

2.1.3 Equipamentos

- Estufa (OLIDEF cz);
- Peneiras de furação oblonga 2,2, 2,5 e 2,8 mm (EAGRI);
- Chapa de aquecimento (IKA C-MAG HS 7);
- Classificadora de cevada;
- Centrífuga (DAIKI 80-2B);
- Balança analítica (METTLER TOLEDO);
- Espectrofotômetro ultravioleta-visível e infravermelho próximo (Varian Cary 5000);
- Pipeta automática de 5 mL (KASVI basic 145628);
- Analisador Elementar (PERKIN ELMER 2400 Series II CHN/S);
- Ultramicro balança (PERKIN ELMER AD6);

- Moinho de facas (THOMAS Model 4 Wiley® Mill);
- Vortex (BIOMIXER QL-901).

2.2 MÉTODOS – ANÁLISES DE CEVADA

As análises de cevada foram realizadas de acordo com o manual de métodos da Convenção Europeia de Cervejaria (Analytica EBC – 2013) e com a coleção de métodos de análise de fabricação de cerveja (MEBAK – 2011). Os ensaios realizados foram: classificação de cevada, pré-germinados, teor de umidade, poder germinativo, energia germinativa, peso de mil grãos, sensibilidade à água, índice de germinação. Os procedimentos são encontrados na seção de análises químicas e físicas do manual da EBC e do livro de matéria prima da MEBAK, e foram adaptados para serem realizados no laboratório LaBCCERva do Instituto de Química da Universidade de Brasília (UnB), e nos laboratórios da Embrapa Cerrados.

2.2.1 Classificação de cevada

A classificação da cevada foi realizada na Embrapa Cerrados de acordo com o método 3.1 do manual da EBC (2005), com adaptações. Para cada genótipo foram feitas três repetições. Inicialmente, as amostras foram homogeneizadas e pesadas em uma balança com duas casas decimais (TOLEDO) e colocadas na máquina classificadora, que possui um fundo e três peneiras com furações oblongas de 2,2, 2,5 e 2,8 mm, o que permite a separação dos grãos de acordo com a sua espessura.

2.2.2 Teor de Umidade

O teor de umidade da cevada foi medido no LaBCCERva de acordo com o método 3.2 do manual da EBC (1997), com adaptações. Para cada cultivar foram feitas triplicatas. Para a realização da análise foram utilizadas placas de Petri, estufa (OLIDEF), dessecador e amostras moídas. A análise promove a remoção da água do material. Para calcular o teor de umidade (U), utilizou-se a Equação 10:

$$U \% (m/m) = \frac{(peso da amostra úmida - peso da amostra seca) x 100}{peso da amostra úmida}$$
 (Equação 10)

2.2.3 Peso de mil grãos

A análise de peso de mil grãos foi realizada no LaBCCERva de acordo com o método 3.4 manual da EBC (1997), com adaptações. Para cada cevada, foram feitas três replicatas. A análise consiste na determinação da massa de mil grãos em uma amostra de cevada.

2.2.4 Pré-germinados

A análise de pré-germinados foi realizada no LaBCCERva de acordo com o método 1.4.5.1 do manual da MEBAK (2011), com adaptações. Para cada amostra foram feitas triplicatas. Inicialmente, as amostras foram homogeneizadas e peneiradas em furações oblongas de 2,5 mm (EAGRI). Os grãos foram submersos em uma solução de sulfato de cobre aquecida. Posteriormente, cada grão foi verificado quanto ao desenvolvimento de embrião, evidenciado pelo procedimento com sulfato de cobre. Os resultados foram expressos em porcentagem.

2.2.5 Poder germinativo

A análise de poder germinativo foi realizada no LaBCCERva de acordo com o método 1.4.1.1 do manual da MEBAK (2011), com adaptações. Para cada amostra, foram feitas três repetições. Inicialmente, as amostras foram homogeneizadas e peneiradas em furações oblongas de 2,5 mm (EAGRI). Em seguida, foram cortadas. As metades das sementes foram submersas em um solução de tetrazólio. Posteriormente, a amostra foi colocada em uma folha branca (sufite) e os grãos que não possuíam o gérmen rosado foram separados, registrando-se essa quantidade³.

2.2.6 Energia germinativa e Sensibilidade à água (BRF 4 e 8 mL)

As análises de energia germinativa e de sensibilidade à água da cevada foram realizadas LaBCCERva de acordo com o método 3.6.2 do manual da EBC (1997), com adaptações. Para cada amostra, foram feitas triplicatas. As amostras foram homogeneizadas e

³ A reação de redução do tetrazólio que ocorre nas células vivas do embrião, na presença de desidrogenase, promove uma coloração rosada, pela formação do formozan, conforme apresentado no ANEXO IV (MILLER, 2004; DA SILVA, A. P. M., 2018).

peneiradas em furações oblongas de 2,5 mm (EAGRI) e colocadas, depois, em placas de petri com 4 mL de água destilada para energia germinativa e 8 mL para sensibilidade. Após 24, 48 e 72 horas do início da análise, realizou-se a contagem de grãos que germinaram.

2.2.7 Índice de germinação

O índice de germinação (IG) é calculado com os resultados da análise de energia germinativa e o tempo médio de germinação (MGT), respectivamente pelas Equações 11 e 12.

$$MGT = \frac{(n_{24} + 2n_{48} + 3n_{72})}{(n_{24} + n_{48} + n_{72})}$$
(Equação 11)

$$IG = \frac{10}{MGT}$$
 (Equação 12)

Em que:

n₂₄ = número de grãos removidos após 24 horas;

n₄₈ = número de grãos removidos após 48 horas;

 n_{72} = número de grãos removidos após 72 horas.

2.2.8 Teor de proteínas

A quantificação através de análise elementar foi realizada no Analisador Elementar da Perkin Elmer 2400 Series II CHN/S da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília (UnB). Para tanto, foi realizada, inicialmente a calibração do equipamento utilizando um branco e uma amostra padrão de acetanilida. As amostras (aproximadamente 50 g) foram então trituradas em um moinho de facas (THOMAS). Para a pesagem das replicatas utilizou-se uma balança ultramicro (PERKIN ELMER) e folhas de estanho. Em cada uma das folhas, pesou-se 0,0020 ± 0,0002 g e iniciou-se o procedimento. Os resultados fornecidos pelo equipamento são os percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio para base úmida. A conversão para base seca foi realizada com a Equação 13, e a conversão para teor de proteína utilizou o fator 6,25, como mostrado na Equação 14.

$$Ntotal \% = \frac{Nitrog \hat{e}nio \ total \ (\%) \ x \ 100}{base \ seca \ (\%)}$$
(Equação 13)

Proteína total
$$\% = Ntotal \% x 6,25$$
 (Equação 14)

Onde:

100 = conversão para porcentagem;

Nitrogênio total % (m/m) = teor de nitrogênio para as amostras umidas;

N total % (m/m) = teor de nitrogênio para as amostras secas;

Base seca % = massa da amostra menos o teor de umidade;

Proteína total % = teor de proteína da amostra.

2.2.9 Teor de β-glucanas

A análise de β-glucanas das amostras das cultivares de cevada foi realizada no LaBCCERva de acordo com o método McCleary (MCCLEARY; CODD, 1991), que é reportado pela AACC através da metodologia 32-23 (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 1999) e é equivalente ao método 3.10.1 do manual EBC (1997). Sendo assim, utilizou-se o kit enzimático da Megazyme International Ireland Ltda para a realização do preparo das amostras e quantificação de β-glucanas, que foram levadas ao espectrofotômetro (VARIAN) para realização da leitura a 510 nm.

2.2.10 Análises estatísticas

Visando estimar a precisão experimental e validar os resultados obtidos, inicialmente determinou-se o desvio-padrão (s, Equação 15), o coeficiente de variação (CV%, Equação 16), e o intervalo de confiança (IC, Equação 17) entre as replicatas de cada amostras.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \overline{x})^2}{n-1}}$$
 (Equação 15)

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$
 (Equação 16)

$$IC_{95\%} = \bar{x} \pm t_{95_{GL}} x \frac{s}{\sqrt{n}}$$
 (Equação 17)

Em que:

 $\overline{\mathbf{x}}$ = média das replicatas;

n = número de replicatas;

t_{95GL} = valor tabelado da distribuição t-Student bicaudal com 95% de confiança, neste caso usou o valor de 4,303, pois o grau de liberdade (GL) é igual a 2.

Posteriormente, realizou-se análise de variância dos dados e agrupamento das médias pelo teste de Scott-Knott a 1% e 5% de significância através do programa Genes (SCOTT;

KNOTT, 1974; CRUZ, C. D., 2013). A análise de variância foi feita individualmente para cada ambiente. Também foi realizada uma análise conjunta, ou seja, considerando os dois ambientes. Para a utilização do programa é necessário determinar o modelo estatístico. Para a análise conjunta escolheu-se o modelo indicado na Equação 18, pois o intuito é avaliar a influência do ambiente e do genótipo em uma determinada variável, e as análises individuais foram feitas utilizando o modelo estatístico de acordo com a Equação 19. A Tabela 9 representa como é realizada a análise de variância conjunta e como são feitas as análises individuais, levando em consideração todas as fontes de variação (FV):

Yijk =
$$\mu$$
 + Gi + Aj + GAij + ϵ ijk (Equação 18)

$$Yij = \mu + Gi + Bj + \epsilon ij$$
 (Equação 19)

Tabela 9 – Representação da análise de variância do modelo em blocos casualizados.

Análise Conjunta					
FV	GL	QM	E (QM)	F	
Ambientes (A)	a-1	QMa	$\sigma^2 + gr\phi_a$	QMa/QMe	
Genótipos (G)	g-1	QMg	$\sigma^2 + ar\phi_g$	QMg/QMe	
G x A	(a-1)(g-1)	QMga $\sigma^2 + r\phi_{ga}$		QMga/QMe	
Erro	ga(r - 1)	QMe	σ^2		
Análise Individual					
FV	GL	QM	E (QM)	F	
Repetições (R)	r – 1	QMr	$\sigma^2 + g\sigma^2_r$		
Genótipos (G)	g - 1	QMg	$\sigma^2 + g\phi_g$	QMg/QMe	
Erro	(r-1)(g-1)	QMe	σ^2		

Onde:

Yijk = valor observado relativo à característica do i-ésimo genótipo na k-ésima repetição dentro do j-ésimo ambiente;

 μ = média geral;

Gi = efeito da i-ésimo genótipo (i = 1, 2,..., g);

 $A_j = \text{efeito do } j\text{-}\text{\'esimo ambiente } (j = 1, 2, ..., a);$

GAij = efeito da interação do i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente;

Bj = efeito da j-ésima repetição (j = 1,2,..., r);

εijk e εij= erro aleatório (fatores não controlados);

FV = fontes de variação;

GL = graus de liberdade;

QM = quadrado médio;

E(QM) e σ^2 = erro associado ao quadrado médio;

F = teste F;

a/A é ambientes;

g/G é genótipos;

r = repetições;

e = erro;

 ϕ_a, ϕ_g e ϕ_{ga} = coeficientes quadrático ambiental, quadrático genotípico e quadrático da interação do genótipo com o ambiente, respectivamente.

A partir dos resultados de variância, é possível realizar outras análises estatísticas, e consequentemente, determinar parâmetros genéticos e ambientas utilizando o programa Genes (CRUZ, C. D., 2013). São estes os parâmetros: as estimativas da variância fenotípica ao nível de média ($\hat{\sigma}_f^2$, Equação 20), a variância ambiental em nível de média ($\hat{\sigma}_e^2$, Equação 21), dos coeficientes de variação experimental (CVe, Equação 22).

$$\hat{\sigma}_f^2 = \frac{\text{QMg}}{\text{r}}$$
 (Equação 20)

$$\hat{\sigma}_{e}^{2} = \frac{QMe}{r}$$
 (Equação 21)

$$CVe (\%) = \frac{\sqrt{QMe}}{\bar{x}} \times 100$$
 (Equação 22)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISES DE CEVADA

As análises de cevada tiveram a intenção de caracterizar cada um dos genótipos e de verificar a sua qualidade para a produção de malte.

3.1.1 Classificação de cevada

A principal função da análise de classificação é afirmar a homogeneidade ou heterogeneidade do material. De acordo com Wade e Froment (2003), a variação de tamanho entre os grãos de um lote pode dificultar o processamento da cevada, além de gerar malte menos uniforme. Grãos de cevada menores, tendem a ter menor quantidade de amido e maior quantidade de proteína (pela relação amido/proteína) (FOX, 2008), resultando em grãos com modificação diferente durante a malteação, pois a distribuição de água e, consequentemente, das enzimas será diferente dependendo da sua composição. Em um mesmo lote, nessas condições, é possível ter grãos com germinação avançada, que resulta em perda de extrato devido ao consumo pelo embrião para o desenvolvimento da planta, mas também grãos que

não germinaram. Os resultados da classificação das amostras estão expressos nas Tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Classificação das cevadas plantadas em Cristalina expressa em termos de primeira qualidade.

Amostra	Média (g)*	S	CV (%)
CC1	$37,31 \pm 10,56 \mathrm{d}$	4,25	11,40
CC2	$51,07 \pm 12,05 \text{ c}$	4,85	9,50
CC3	$61,26 \pm 6,37 \text{ b}$	2,57	4,19
CC4	$55,58 \pm 16,88 \mathrm{c}$	6,80	12,23
CC5	$43,09 \pm 2,50 d$	1,01	2,34
CC6	$42,32 \pm 16,40 \mathrm{d}$	6,60	15,60
CC7	$72,45 \pm 6,15$ a	2,48	3,42
CC8	$81,82 \pm 3,99 \text{ a}$	1,60	1,96
CC9	$72,20 \pm 8,23$ a	3,31	4,59
CC10	$66,80 \pm 1,45 \text{ b}$	0,58	0,87

Nota: *as médias (não se refere aos desvios) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 1% de significância.

Tabela 11 – Classificação das cevadas plantadas em Perdizes expressa em termos de primeira qualidade.

Amostra	Média (g)*	S	CV (%)
CP1	95,17 ± 1,13 a	0,45	0,48
CP2	$90,44 \pm 3,00 \text{ c}$	1,21	1,33
CP3	$93,58 \pm 1,27$ a	0,51	0,55
CP4	$91,24 \pm 2,90 \text{ c}$	1,17	1,28
CP5	$84,96 \pm 2,52 d$	1,01	1,19
CP6	$92,87 \pm 2,86 \text{ b}$	1,15	1,24
CP7	$95,10 \pm 1,89 a$	0,76	0,80
CP8	$95,19 \pm 2,65$ a	1,07	1,12
CP9	$94,67 \pm 0,58$ a	0,23	0,25
CP10	$95,48 \pm 0,69$ a	0,28	0,29

Nota: *as médias (não se refere aos desvios) seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 1% de significância.

Expressou-se os valores apenas em função da parcela de primeira qualidade, pois a FAO (2009) garante ser a de maior relevância para a produção de malte. Esta organização também define a retenção mínima na soma das duas peneiras, 2,5 e 2,8 mm que deve ser superior a 90%, no entanto, esse valor pode variar de acordo com a legislação do país ou com a exigência da empresa (FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION, 2009). Na Austrália, a especificação de retenção mínima para produção de malte de primeira qualidade é de 70%, estipulado pelo Programa de Melhoramento de Cevada do Norte (*Northern Barley Improvement Program*) (GRAIN TRADE AUSTRALIA, 2013), enquanto, no Brasil, a legislação não especifica um valor (BRASIL, 1996).

Analisando os resultados do cultivo em Perdizes (Tabela 11) é possível perceber que todos os materiais alcançaram no mínimo 80% dos grãos na primeira qualidade, sendo a cevada CP10 a de maior percentual (95,48%). O menor percentual (84,96%) foi obtido pela variedade CP5. Por sua vez, dos resultados de Cristalina (Tabela 10) apenas três cultivares

atingiram a retenção mínima de 70%: CC7 (72,45%), CC8 (80,99%) e CC9 (72,20%). Mesmo que as incertezas associadas as análises tenham sido altas, considerando os CVs, a avaliação da qualidade experimental atráves da precisão foi boa para a maioria das amostras, pois – de acordo com Pimentel-Gomes (1990) – quanto menor for a estimativa do CV, maior a precisão do experimento e menor é a significância entre as estimativas de médias. Conforme o autor, o erro experimental é considerado baixo quando o CV é inferior a 10%. Deste modo, as amostras CC1 (11,40%), CC4 (12,23%) e CC6 (15,60%) foram as que apontaram maior erro experimental⁴.

Comparando a manifestação das variedades nos dois locais pela análise conjunta, é possível perceber que a interação genótipo e ambiente foi diferente e significativa a 1%. Tal afirmação é comprovada pelos elevados valores de teste F que são expostos nas Tabela 12. Devido a esse fato, foi feita a análise de cada ambiente individualmente e os resultados foram expressos nas Tabelas 12 e 13. Essa interação é responsável pela variabilidade fenotípica das cultivares, uma vez que ela é a expressão do genótipo influenciado pelos fatores ambientais, ou seja, diferenças no desempenho dos genótipos são reveladas em resposta às mudanças no ambiente (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; SAYD, 2014, MAGALHÃES *et al.*, 2018). A interação dos diferentes genótipos com o ambiente deve-se a duas condições. A primeira é a variação previsível que ocorre de um local para o outro, como solo e manejo, também chamada de biótica. A segunda, por sua vez, é a variação imprevisível ou abiótica – como exemplos, temos a temperatura do ar e do solo, a disponibilidade de nutrientes e a distribuição de chuvas (HOLOPAINEN-MANTILA, 2015).

Tabela 12 – Análise de variância do modelo em blocos casualizados.

Análise Conjunta						
FV GL QM E (QM) F						
Ambientes (A)	1	QMa	17832,02	51,48**		
Genótipos (G)	9	QMg	428,44	2142,65**		
G x A	9	QMga	275,43	33,010**		
Erro	40	QMe	8,32	-		

Análise Individual						
Fatores em comum Cris				alina	Pero	dizes
FV	GL	QM	E (QM) F		E (QM)	F
Repetições (R)	2	QMr	1,13		2,38	
Genótipos (G)	9	QMg	671,40	39,29**	32,48	57,28**
Erro	18	QMe	17,54		0,57	

Nota: ** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

_

⁴ Os erros experimentais são atribuídos a propagação de erros que existem no decorrer da análise, começando desde a escolha das sementes para o cultivo que não são exatamente iguais, até a realização da análise, a qual depende de erros de amostragem e do método em si, por exemplo.

Tabela 13 – Parâmetros estatísticos.

Parâmetros	Cristalina	Perdizes
$\hat{\sigma}_f^2$	223,80	10,83
$\hat{\sigma}_{\mathrm{e}}^{2}$	5,85	0,19
CVe (%)	7,17	0,81

Levando em consideração o teste F mostrado na Tabela 12, além da diferença da interação entre ambiente e genótipo, é possível perceber diferenças significativas entre os genótipos, caracterizando uma alta variabilidade entre eles, o que era esperado, pois como descrito anteriormente, eles possuem origens diferentes. O teste F é utilizado também para estimar a precisão experimental. Para Resende e Duarte (2007) o seu valor deve ser maior que 2,0 para a avaliação de cultivares. Sendo assim, o ensaio realizado em Perdizes demonstrou precisão experimental maior.

Como informado anteriormente, o manejo foi o mesmo em ambos os locais, portanto essa variação no resultado, para um mesma cultivar, deve-se ao ambiente. Pelas estimativas da variância ambiental ($\hat{\sigma}_e^2$) e dos coeficientes de variação experimental (também conhecido como coeficiente de variação ambiental, CVe) obtidas para os dois ambientes é possível perceber a intensidade do efeito ambiental sobre os genótipos, que foram relevantes em Cristalina (5,85% e 7,17% respectivamente, contra 0,19% e 0,81% obtidos para Perdizes), afetando a variância fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$) nesse local (223,80 contra 10,83 em Perdizes). Como resultado para classificação em primeira qualidade, tendo com exemplo a variedade 1, seu cultivo em Cristalina (CC1) obteve o percentual de 37,31%, sendo o menor resultado dentre as vinte amostras. Comparativamente, para o mesmo parâmetro, seu cultivo em Perdizes (CP1) obteve o percentual de 95,17%, sendo o terceiro melhor resultado (atrás apenas das amostras CP8, com 95,19% e CP10, com 95,48%). Fox *et al.* (2006) também verificaram que o tamanho do grão foi mais afetado pelo meio ambiente, mesmo havendo um forte efeito genético. Esses autores obtiveram retenção de primeira qualidade entre 6,7% e 97,4% para a avaliação de sete cultivares em 25 locais diferentes, por quatro anos.

Na 30^a Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada, Antoniazzi *et al.* (2015a; 2015b) reportaram, ensaios de Valor de Cultivo e Uso de Cevada para os anos 2013 e 2014 em quatro locais do Paraná. Os resultados obtidos para a classificação de primeira qualidade comprovaram a existência de interação genótipo e ambiente, e que esta variou conforme o ano.

Pelos fatos assinalados e principalmente pelo teste de Scott-Knott, utilizou-se a análise de classificação como um fator de seleção. O agrupamento das médias, pelo teste de Scott-Knott, mostrou, para ambos os ambientes, quatro grupos de similaridades, sendo que o primeiro (grupo a) registrou três cultivares em comum, C7, C8 e C9. Sendo assim, essas cultivares podem ser consideradas estáveis nas duas localidades, pois ostentam grãos de primeira qualidade que atingiram o padrão proposto de 70%, confirmado pela análise de Scott-Knott a 1% de significância, em ambientes desfavoráveis (LORENCETTI *et al.*, 2004; MARTINS, D.D.O., 2016).

Desse modo, levando em consideração os resultados estatísticos, as cultivares que apareceram em um dos dois últimos grupos pelo teste de Scott-Knott (grupos c e d) – C1, C2, C4, C5, C6 – foram descartadas por não exibirem resultados pertinentes ao propósito da a produção de malte. As cultivares C7, C8 e C9 apontaram os melhores resultados, e foram encaminhadas para as demais análises. Por fim, as cultivares C3 e C10 foram avaliadas. Apesar de estarem no mesmo grupo ("a"em Perdizes, e "b" em Cristalina), é possível concluir que os resultados da variedade C10 foram melhores em ambos os locais, com 95,48% e 66,48% dos grãos em primeira qualidade em Perdizes e Cristalina, respectivamente. Enquanto a C3 denotou valores de 93,58% e 61,26%, sendo descartada, portanto. A variedade C10, por sua vez, foi submetida às demais análises.

3.1.2 Teor de umidade

As amostras de cevadas utilizadas foram colhidas em 2017 e, portanto, submetidas a armazenamento. Sendo assim, era esperado que o teor de umidade fosse inferior a 13% como estipulado na Portaria 691/96. Isso foi comprovado pelos resultados indicados na Tabela 14. Os resultados variaram de 7,98% a 11,88%, e possuíram CVs baixos (inferiores a 10%), considerados ideais pela classificação de Pimentel-Gomes (1990).

Tabela 14 – Teor de umidade.

Amostra	Média (%)	S	CV (%)
CC7	$10,87 \pm 0,60$	0,24	2,22
CC8	$10,63 \pm 0,33$	0,13	1,25
CC9	$11,88 \pm 0,65$	0,26	2,20
CC10	$7,98 \pm 0,57$	0,23	2,88
CP7	$9,01 \pm 0,85$	0,34	3,80
CP8	$10,54 \pm 0,35$	0,14	1,34
CP9	$9,78 \pm 0,82$	0,33	3,38
CP10	$10,51 \pm 1,39$	0,56	5,32

Averiguar o conteúdo de água dos grãos é de extrema importância tanto para os produtores quanto para a indústria. Como mencionado anteriormente, a cevada possui um período de dormência que impede a germinação logo após a colheita (PORTO, 2011). Dessa forma, esses grãos são armazenados até que estejam aptos a germinar, mas armazená-los com teor de umidade elevado pode acelerar sua deterioração. Quanto maior a quantidade de água nas sementes, maior é a atividade do grão e mais intenso é o processo de respiração, provocando o consumo das suas reservas energéticas e, consequentemente, a redução do peso da semente (TUNES *et al.*, 2010; CRUZ, M.R., 2015; WAURECK, 2015). O teor de umidade também é importante para a determinação dos demais constituintes da cevada (proteína, carboidratos, entre outros), pois eles são estimados com base no teor de matéria seca (KUNZE, 2004).

3.1.3 Peso de mil grãos

Piacentini (2015), admite que cultivares de cevada com alto peso de mil grãos (PMG) possuem maior teor de amido, ou seja, proporcionam maior rendimento. A análise de PMG é complementar à classificação, permitindo uma estimativa (subjetiva) da densidade e do tamanho dos grãos (NEWMA; NEWMAN, 2008; AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, 2011). Sendo assim, observaram-se os resultados de PMG, conforme a Tabela 15, realizando uma correlação com as Tabelas de classificação 10 e 11.

Tabela 15 – Resultados da análise de peso de mil grãos

Amostra	PMG (g)*	S	CV (%)
CC7	$36,26 \pm 0,60 \text{ b}$	0,24	0,66
CC8	$39,84 \pm 0,16$ a	0,07	0,16
CC9	$35,62 \pm 3,15 \text{ b}$	1,27	3,56
CC10	$36,48 \pm 0,42 \text{ b}$	0,17	0,47
CP7	46,23 ± 1,60 b	0,65	1,40
CP8	$46,05 \pm 0,24 \text{ b}$	0,10	0,21
CP9	$47,83 \pm 0,56$ a	0,23	0,47
CP10	$46,50 \pm 1,01 \text{ b}$	0,41	0,88

Nota: * as letras dos agrupamentos referem-se apenas as médias e não aos desvios-padrão (s).

Para o ambiente Cristalina, percebe-se que, a cultivar C8 foi a que deteve maior quantidade de grãos de primeira qualidade, além de ter demonstrado a maior PMG, ou seja, são resultados homólogos. No entanto, os outros resultados são muito próximos em ambas as análises, de modo que ao ordená-los, não se tem a mesma classificação para os dois procedimentoa. Isso se deve às incertezas associadas às análises. Briggs (1998) garante que a

contagem de mil grãos ao acaso para a realização do PMG pode gerar um erro de até 12% do valor verdadeiro. Realizou-se então o teste de Scott-Knott a 5% de significância e observou-se a formação de dois grupos de similaridade para ambos os casos. O primeiro grupo (a) apresentou apenas uma média superior às demais: para Cristalina, a cultivar C8 e para Perdizes, a C9.

Briggs (1998) afirma que valores de PMG entre 32 g e 44 g são normais para a cevada. Ullrich (2011), por sua vez, afirma que cevadas mais bojudas possuem pesos que variam de aproximadamente 40 g a 50 g. Sendo assim, as amostras cultivadas em Perdizes se enquadram no padrão de PMG para a produção de malte. No entanto, das amostras de Cristalina, apenas a cultivar C8 é adequada para o processamento. Amabile (2013), obteve resultados que variaram de 32,50 g a 52,75 g para 39 genótipos-elite de cevadas cultivadas no Distrito Federal – algumas amostras indicaram, assim, valores superiores e inferiores aos deste trabalho.

3.1.4 Pré-germinados

Mais uma vez é importante lembrar que as amostras de cevada utilizadas foram colhidas em 2017 e, portanto, submetidas a armazenamento, de modo que não possuíam dormência significativa. A análise de pré-germinados, foi realizada, então, com o intuito de verificar se existia quantidades significativas de grãos que germinaram em algum dos momentos anteriores, como na espiga ou no próprio armazenamento. Os resultados foram reportados na Tabela 16.

Tabela 16 – Análise de pré-germinados.

Amostra	M (%)	M*	S	CV(%)
CC7	98	$1,43 \pm 0,09$ a	0,04	2,59
CC8	98	1,43 a	0,00	0,00
CC9	98	$1,44 \pm 0,06$ a	0,02	1,67
CC10	98	$1,47 \pm 0,23$ a	0,09	6,32
CP7	97	$1,40 \pm 0,07 \text{ b}$	0,03	2,13
CP8	98	1,43 b	0,00	0,00
CP9	98	$1,45 \pm 0,11 \text{ b}$	0,04	2,95
CP10	100	$1,54 \pm 0,14$ a	0,06	3,76

Nota: *dados transformados em arcsen $((x/100)^{0.5})$, em que x = ao valor, em %, da média. As letras dos agrupamentos referem-se apenas às médias, e não aos desvios-padrão (s).

Ao analisar a qualidade de um lote de cevada, é importante verificar a presença de grãos que já manifestavam sinais de germinação, pois eles podem comprometer o

armazenamento e o processamento (BRIGGS, 2004). Brookes (1980) afirmou que a colheita de grãos com alto teor de umidade pode promover a quebra da dormência antecipada, e promover a pré-germinação das sementes. Esse fenômeno é verificado em grãos que manifestaram ruptura em alguma das camadas do envoltório (pericarpo e testa, por exemplo). O autor ainda afirmou que lotes com mais de 5% de grãos pré-germinados tornam a cevada inutilizável para a malteação. Sementes que apresentam germinação não sobrevivem à armazenagem e ainda possuem elevado potencial para o crescimento de fungos (BROOKES, 1980; BRIGGS, 1998).

Pelos dados retratados, é possível dizer que, pela análise de pré-germinados, os genótipos possuem qualidade para a malteação, pois contêm menos que 5% de grãos prégerminados. O maior percentual fornecido pela amostra CP7, com o teor de 3%. O teste de Scott-Knott a 5% de significância não gerou agrupamentos diferentes para Cristalina, mas foi constatada a formação de dois grupos de similaridade para Perdizes, para a qual – no primeiro grupo (grupo a) – apenas a média da C10 era superior às demais.

3.1.5 Análises de germinação e sensibilidade à água

A avaliação da germinação é feita através dos testes de poder germinativo (PG), energia germinativa (EG), índice de germinação (IG) e sensibilidade à água. As respostas obtidas das análises de germinação foram reportadas nas Tabelas 17 e 18, para os cultivos em Cristalina e Perdizes, respectivamente.

Tabela 17 – Análises de poder germinativo (PG), BRF 4 mL (energia germinativa), BRF 8 mL, índice de germinação (IG) e sensibilidade à água (SA) para as cevadas cultivadas em Cristalina.

CC10 Amostras CC7 CC8 CC9 99 Média (%) 96 96 97 Média* $1.38 \pm 0.04 \text{ b}$ $1,50 \pm 0,14$ a $1.36 \pm 0.09 b$ $1,41 \pm 0.09$ b PG 0,02 0.06 0,04 0.03 CV (%) 1,14 3,85 2,72 2,44 96 98 99 98 Média (%) $1,46 \pm 0,06$ a **BRF** Média* $1,39 \pm 0,24$ a 1.44 ± 0.06 a $1,44 \pm 0,06$ a 4 mL 0.10 0,02 0.02 0.02 CV (%) 7,02 1,67 1,65 1,67 Média (%) 93 97 92 97 Média* **BRF** 1.31 ± 0.13 b $1,41 \pm 0.05$ a 1.29 ± 0.14 b $1,41 \pm 0,05$ a 8 mL 0,05 0,02 0,06 0,02 CV (%) 1,86 1,32 4,89 1,32 IG 9.0 9.5 9.4 9.0 SA (%) 3,0 1,0 7,0 1,0

Nota: *dados transformados em arcsen($(x/100)^{0.5}$), em que x = ao valor, em %, da média. As letras dos agrupamentos referem-se apenas as médias e não aos desvios-padrão (s).

Tabela 18 – Análise de poder germinativo (PG), BRF 4 mL (energia germinativa), BRF 8 mL, índice de

germinação (IG) e sensibilidade à água (SA) para as cevadas cultivadas em Perdizes.

	Amostras	CP7	CP8	CP9	CP10	
	Média (%)	96	97	96	96	
PG	Média*	$1,38 \pm 0,04$ a	$1,39 \pm 0,05$ a	$1,37 \pm 0,05 \text{ a}$	$1,36 \pm 0,03$ a	
rG	S	0,01	0,02	0,02	0,01	
	CV (%)	1,08	1,53	1,40	1,02	
	Média (%)	92	98	97	97	
BRF	Média*	$1,30 \pm 0,21$ a	$1,47 \pm 0,25$ a	$1,40 \pm 0,16$ a	$1,40 \pm 0,16$ a	
4 mL	S	0,09	0,10	0,06	0,06	
	CV (%)	6,66	6,85	4,49	4,49	
	Média (%)	89	94	89	92	
BRF	Média*	$1,24 \pm 0,15$ a	$1,32 \pm 0,11$ a	$1,24 \pm 0,06$ a	$1,28 \pm 0,10$ a	
8 mL	S	0,06	0,04	0,03	0,04	
	CV (%)	4,80	3,40	2,02	3,04	
	IG	7,4	8,1	9,3	8,1	
	SA (%)	3,0	4,0	8,0	5,0	

Nota: *dados transformados em $arcsen((x/100)^{0.5})$, em que x = ao valor, em %, da média. As letras dos agrupamentos referem-se apenas as médias e não aos desvios-padrão (s).

O desempenho da germinação é o mais importante critério de qualidade para a cevada cervejeira. Cevadas que mostraram germinação irregular produzem maltes com baixa modificação e, consequentemente, qualidade reduzida (FRANCAKOVA *et al.*, 2012). Desse modo, antes da submissão de um lote ao processamento são realizados testes capazes de avaliar a quantidade de grãos vivos, a presença ou ausência de dormência (e sua intensidade), além da capacidade dos grãos de germinar em excesso de água e baixa disponibilidade de oxigênio (BRIGGS, 1998; ULLRICH, 2011).

O poder germinativo determina a capacidade que a cevada tem para germinar, ou seja, representa a quantidade de grãos vivos da amostra, estando ou não em período de dormência (PORTO, 2011). O limite de tolerância mínimo admitido pela Portaria 691/96 é de 95% para o poder germinativo (BRASIL, 1996). Os dados obtidos exibem, como mínimo, o valor de 96%. Portanto, as cultivares testadas podem ser usadas para finalidades cervejeiras. No entanto, é de extrema importância verificar a capacidade do material de germinar no momento em questão, ou seja, sem que seja utilizado qualquer tipo de indução à germinação, como no PG.

A energia germinativa, assim como o PG, indica a capacidade dos grãos para germinar. No entanto, a diferença está na utilização de indutores à germinação, que neste caso não são utilizados, ou seja, mede-se a capacidade de germinar que os grãos possuem naquele momento, para condições específicas, indicando a sanidade dos grãos e, consequentemente, o êxito da malteação (BRIGGS, 1998; PORTO, 2011). A EG é muito utilizada para determinar o grau de dormência da cevada, fornecendo informações sobre como seria a procedência de

germinação (uniformidade) durante a malteação. Para que a cevada possa ser encaminhada para o processamento, ela deve ostentar o valor mínimo de 95% na análise de EG, ou seja, o valor de EG deve ser próximo do valor de PG (KUNZE, 2004).

Considerando que os resultados de PG foram satisfatórios, observou-se então o resultado da análise de EG. Apenas uma amostra expressou valor inferior ao valor de referência, sendo esta a CP7, com 92%. No entanto, todos os resultados foram inferiores aos de PG. Tunes *et al.* (2010) avaliaram a energia germinativa de sementes de cevadas armazenadas durante 6 meses. Inicialmente, ao realizar o teste no recebimento da cevada, eles verificaram a presença da dormência (EG inferior a 50%). Após três meses de armazenamento, verificaram a superação da dormência (EG ≥ 95%), e após seis meses perceberam uma redução na EG, que chegou a 90%. A explicação para essa redução deve-se a fatores intrínsecos à semente durante o armazenamento que inibem a sua germinação, como a presença de compostos fenólicos que reduzem a disponibilidade do oxigênio para o embrião (AMARAL, 1992 apud TUNES *et al.*, 2010). Considerando que as amostras de cevada utilizadas nesse trabalho foram colhidas em setembro de 2017, o mesmo fenômeno foi verificado.

Para Francakova *et al.* (2012), a energia germinativa por si só não manifesta suficientemente a profundidade da maturação pós-colheita (superação da dormência), devendo ser determinado o índice de germinação (IG). A especificação da FAO (2009) afirmou que o valor mínimo para o índice de germinação é 6,0, e todos os resultados obtidos foram superiores a esse teor (7,4 a 9,5), confirmando a teoria de que ocorreu uma inibição da germinação devido ao longo período de armazenamento, e não devido à dormência.

Ullrich (2011) reconhece que outro problema relacionado principalmente as cevadas recém-colhidas é a sensibilidade à água (SA), que diz respeito à capacidade do material de germinar em excesso de água e baixa disponibilidade de oxigênio. Ele afirma também que ao contrário da dormência, a SA pode ou não diminuir durante o armazenamento. Deste modo, a SA proporciona uma previsão de como se deve proceder com a malteação, para que a respiração do grão não seja afetada, ocasionando uma germinação irregular. Os resultados obtidos para a sensibilidade à água foram inferiores a 10%. De acordo com Kunze (2004), uma cevada com SA de até 10% não é sensível. Normalmente, as cevadas utilizadas não sofrem com uma germinação irregular, devido a quantidade de água usada durante o processo de maceração. Mas é importante que seja feita uma aeração do material de tempos em tempos, para promover uma adequada oxigenação do material.

Pelas análises estatísticas, é possível perceber que o coeficiente de variação (CV) para todas as análises foi inferior a 10% (1,0% a 7,02%), sendo então classificado como baixo para as análises de materiais agronômicos pela classificação de Pimentel-Gomes (1990). Os resultados do agrupamento de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância não apresentou formação de mais de um grupo para Perdizes. No entanto, observou-se a formação de dois grupos de similaridade para Cristalina nas análises de PG e BRF 8 mL. O primeiro grupo (grupo a) possui apenas uma média superior às demais para PG (C8). Para BRF 8 mL, o agrupamento foi de duas médias para cada um dos grupos, sendo C8 e C10 as pertencentes ao primeiro grupo. Portanto, as análises de vitalidade indicam que as cultivares com maior potencial cervejeiro são C8 e C10.

3.1.6 Teor de proteínas

Com o intuito de verificar se a composição proteica estava dentro dos padrões de normalidade, cujos valores estão entre 10 e 12%, determinou-se o teor de nitrogênio total das amostras, que foram convertidas em teor de proteína, utilizando o fator de conversão de 6,25 (BRIGGS, 1998; KUNZE, 2004; SRIPERM, 2011). Todos os valores obtidos para as cevadas estavam acima da faixa do esperado, como apresentado na Tabela 19.

Tabela 19 – Resultados de nitrogênio total e proteínas.

1 to be in the second of the open of the protection.							
Amostra	N (%)	PM (%)*	S	CV (%)			
CC7	$2,63 \pm 0,22$	$16,44 \pm 1,36$ a	0,55	3,32			
CC8	$2,84 \pm 0,10$	$17,73 \pm 0,61$ a	0,25	1,39			
CC9	$2,73 \pm 0,10$	$17,06 \pm 0,62$ a	0,25	1,47			
CC10	$2,50 \pm 0,46$	$15,62 \pm 2,86$ a	1,15	7,38			
CP7	$2,05 \pm 0,29$	12,81 ± 1,81 a	0,73	5,69			
CP8	$2,49 \pm 0,27$	$15,58 \pm 1,72$ a	0,69	4,44			
CP9	$2,45 \pm 0,16$	$15,31 \pm 0,97$ a	0,39	2,56			
CP10	$2,27 \pm 0,02$	$14,21 \pm 0,12$ a	0,05	0,35			

Nota: * as letras dos agrupamentos referem-se apenas as médias e não aos desvios-padrão (s).

Os menores resultados foram obtidos em Perdizes, variando de 12,81% a 15,58%. Em contrapartida, o menor valor obtido em Cristalina foi de 15,62%, ou seja, superior a qualquer um dos resultados de Perdizes. Além disso, analisando as respostas obtidas pelas cultivares nos dois ambientes, obteve-se a maior variação no genótipo C7, com 3,63% de diferença. Já a menor variação, foi obtida pela variedade C10, com 1,41%. Levando em consideração que a os genótipos apresentaram valores acima do esperado, e foram suscetíveis às variações ambientais, devido às oscilações dos resultados, não podem, portanto ser

apontados como estáveis (LORENCETTI *et al.*, 2004; MARTINS, D.D.O., 2016). A análise estatística, entretanto, não identificou diferenças significativas, para ambos os ambientes (formação de apenas um grupo) pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Além disso, baixos valores de CVs (inferiores a 10%).

Diferentes condições ambientais de crescimento da cultura podem afetar o enchimento do grão e, consequentemente, a sua composição, que compromete a qualidade final (HOLTEKJØLEN *et al.*, 2008). Muitos estudos apontaram que as respostas dos genótipos foram influenciadas pelas condições ambientais, causando diminuição no tamanho do grão e do conteúdo de amido, além de elevação de β-glucanas e de proteínas, principalmente (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; JIN *et al.*, 2004; BRENNAN; CLEARY, 2005; PASSARELA *et al.*, 2005; QI *et al.*, 2006; HOLTEKJØLEN *et al.*, 2008). O fenótipo é a resposta que da interação do genótipo com o ambiente, e deve-se a duas condições. A primeira é a variação previsível que ocorre de um local para o outro, como solo e manejo. A segunda, por sua vez, é a variação imprevisível, como a temperatura do ar e do solo, a disponibilidade de nutrientes e a distribuição de chuvas (HOLOPAINEN-MANTILA, 2015).

Em seu trabalho, Holopainen-Mantila (2015), descreveu como as condições durante o cultivo — temperatura, disponibilidade de água e até mesmo radiação solar — podem interferir no conteúdo de proteína do grão. Esses fatores influenciam a taxa fotossíntética, comprometendo a formação da planta. Consequentemente, o transporte de carboidratos para o interior do grão também é comprometido, o que aumenta indiretamente a concentração de nitrogênio (BROOKS *et al.*, 1982; ANGELINO *et al.*, 1997; GRASHOFF; D'ANTUONO, 1997).

Sabe-se também que a aplicação de fertilizantes é utilizada para aumentar a produtividade das culturas. No entanto, a proteína do grão mostra um acréscimo linear com o aumento das doses de nitrogênio aplicadas. Beillouin *et al.* (2018) afirmam que as aplicações devem promover um equilíbrio entre o rendimento e a qualidade de grãos desejada, uma vez que o preço pago aos produtores é muito menor para a cevada fora dos padrões cervejeiros. Sendo assim, um manejo adequado da cultura e do solo induz à produção de grãos de maior qualidade, além de garantir uma alta produtividade, gerando maior retorno financeiro para o produtor (CORDEIRO, 2006; ANTUNES, 2018).

Na malteação, a alta concentração de proteína pode alterar seriamente as propriedades de modificação da cevada. Nessa condição, os espaços que existem entres os grânulos de amido são preenchidos com matriz proteica. Algumas proteínas da cevada estão fortemente ligadas aos grânulos de amido, o que promove uma compactação do endosperma

(EDNEY et al., 2007; YU et al., 2017). Grãos de cevadas que mostraram essa compactação são normalmente mais duros, menores, e seu endosperma é, então, denominado vítreo. A alta dureza desses grãos impede a distribuição de água e de enzimas através do endosperma, ou seja, prolonga o processo de malteação, pois retarda os processos de degradação e modificação do endosperma (BRENNAN et al., 1996; PSOTA et al., 2007; PIACENTINI, 2015).

Na cerveja, o alto teor de proteína também é indesejado. Diversos estudos apontam o alto teor de proteína como causador de elevada viscosidade e turbidez, tempo de prateleira reduzido, e principalmente baixo rendimento de processo (MOLINA-CANO *et. al.*, 1997; ZHANG *et al.*, 2001; SA; PALMER, 2004; FOX, 2008; SCOBIE; JONES, 2009; JAMAR *et al.*, 2011; FANG *et al.*, 2019). O rendimento é medido em função da quantidade de açúcares fermentescíveis produzidos pela ação das enzimas sobre o amido do malte; e, posteriormente, após a etapa de fermentação, determinando a fermentabilidade desses carboidratos. Todavia, a ação das amilases sobre o amido pode ser limitada, produzindo um baixo teor de extrato. A explicação se dá pelo alto teor de proteínas, que é responsável pela redução da digestão do amido pelas amilases, pois os grânulos de amido podem permanecer embebidos na matriz protéica, impedindo o acesso ao subtrato (YU *et al.*, 2017).

Por outro lado, os compostos nitrogenados possuem diversas funcionalidades importantes, sendo altamente influenciadas pelas matérias-primas e pela condução do processo. Estes materiais compõem cerca de 5% do mosto, que são derivados solúveis da proteína total do malte, apresentando diferentes pesos moleculares. Entre eles, estão os aminoácidos, os peptídeos e as proteínas, obtidos a partir da hidrólise do malte. As proteínas de alto peso molecular são responsáveis pela textura e pela espuma da cerveja, enquanto as de médio peso molecular favorecem a estabilidade dessa espuma, além de contribuírem com o frescor e a retenção de CO₂. Os aminoácidos livres (FAN) e os peptídeos, por sua vez, são responsáveis pelas características organolépticas da cerveja, além de serem fundamentais no metabolismo das leveduras durante a fermentação (MATHIAS *et al.*, 2014). Dessa forma, cevadas com baixo teor de proteína também não são utilizadas para a produção de malte.

Os elevados resultados para o conteúdo proteico são um dos grandes problemas do Cerrado (GUERRA, 1995). Amabile *et al.* (2008; 2014) observaram oscilações do teor de proteína para cevadas cultivadas em diversas localidades do Cerrado, obtendo resultados de até 14,7%. Segundo eles, durante o período de enchimento do grão ocorreram altas temperaturas e baixas umidades relativas do ar, causas dessa elevação. Todavia, os valores são expressivamente maiores que os relatados nas literaturas apresentadas, que estão

relacionadas ao ano de cultivo, e aos genótipos utilizados. Zale *et al.* (2000) reportam em suas pesquisas que em todos os sete cromossomos da cevada existem regiões relacionadas ao seu teor de proteína, sendo então uma característica hereditária que depende do ambiente de crescimento (EMEBIRI *et al.*, 2005).

Pinheiro (2016) obteve resultado elevado do teor de proteína para a cevada que utilizou em sua malteação, atingindo o valor de 13,2%. No entanto, esse resultado não representa um ponto negativo para autor, pelo contrário, ele afirma que o alto teor de proteína fornece cremosidade de espuma e coloração diferenciada. Além disso, o alto teor de proteína proporciona poder diastático elevado, ou seja, maior produção de enzimas (BRIGGS, 1998; EMEBIRI *et al.*, 2004), podendo então ser utilizada em brassagens com adjuntos ou ainda, substituindo parte do malte convencional utilizado, visando maior produção de extrato. As considerações propostas podem ser utilizadas para justificar a utilização dessas cevadas para a produção de maltes especiais, que além de acrescentar certas peculiaridades, também agrega valor ao produto.

3.1.7 Teor de β-glucanas

As β-glucanas, são os principais componentes da parede celular do endosperma da cevada, responsáveis ainda por impactos negativos dentro da maltaria e da cervejaria (FOX, 2008). Juntamente com as proteínas, são as culpadas pelos delongamentos na indústria cervejeira, aumentando o custo de produção. Sabe-se que a presença das β-glucanas durante a mostura aumenta a turbidez e a viscosidade do mosto, causando problemas nas etapas de filtração (JAMAR *et al.*, 2011). Além disso, sua degradação incompleta durante a malteação pode reduzir o rendimento do malte e, consequentemente, do processo de brassagem, pois se impede o acesso das enzimas aos grânulos de amido, gerando então menor teor de extrato, ou seja, menor teor de açúcares fermentecíveis (JIN *et al.*, 2004). O baixo teor de β-glucanas é, portanto, uma qualidade desejável para as cevadas cervejeiras. O conteúdo de β-glucanas foi retratado na Tabela 20.

Tabela 20 – Análise de β-glucanas.

Amostra	M (%)*	S	CV (%)
CC7	$3,84 \pm 1,32$ a	0,53	13,83
CC8	$4,17 \pm 1,09 \text{ a}$	0,44	10,51
CC9	$4,23 \pm 1,30 \text{ a}$	0,52	12,37
CC10	$3,73 \pm 1,34$ a	0,54	14,41
CP7	$3,33 \pm 0,04 \text{ b}$	0,01	0,42
CP8	$4,35 \pm 0,24$ a	0,10	2,20
CP9	$4,08 \pm 0,27$ a	0,11	2,69
CP10	$3,33 \pm 0,07 \text{ b}$	0,03	0,85

Nota: * as letras dos agrupamentos referem-se apenas as médias e não aos desvios-padrão (s).

Neste trabalho, obtiveram-se valores entre 3,33% e 4,35% para o conteúdo de β-glucanas, que estão dentro da faixa aceitável, que varia de 3,0% a 4,5% em condições normais (KUUSELA *et al.*, 2004; SA; PALMER, 2004; FOX, 2008). Além disso, analisando as respostas obtidas pelas cultivares nos dois ambientes, obteve-se variação de 0,15% a 0,51% entre eles. Tais argumentos remetem à baixa suscetibilidade às variações ambientais e aos resultados satisfatórios em ambientes desfavoráveis (LORENCETTI *et al.*, 2004; MARTINS, D.D.O., 2016). Zhang *et al.* (2001) realizaram estudos com dez genótipos cultivados em oito ambientes diferentes, alcançando valores entre 3,31% e 5,46% e variações entre 0,01% e 1,58%. Um intervalo ainda maior foi obtido por Holtekjølen *et al.* (2006) – de 2,4% a 8,3% – mas, Andersson *et al.* (1999) relataram valores de até 14,9%.

Analisando os resultados estatísticos, percebe-se que as variações foram maiores para Cristalina do que para Perdizes. Os CVs para Perdizes, de 0,42% a 2,69%, são considerados baixos pela classificação de Pimentel-Gomes (1990). Por outro lado, todos os valores para Cristalina foram elevados, de 10,51 a 14,41%, pois são superiores a 10%. A explicação para essa diferença entre os ambientes, deve-se à diferença no teor de proteína, que apresentou teores mais elevado em Cristalina. Foi afirmado anteriormente que o alto teor de proteína está relacionado com o aumento da turbidez do mosto (JAMAR *et al.*, 2011). A medida de β-glucanas é realizada através de um espectrofotômetro UV-VIS e depende fortemente da turbidez, pois a radiação pode ser absorvida ou refratada pelas partículas presentes na solução, causando variação nas respostas do detector (SKOOG, 2002). O teste de Scott-Knott a 5% de significância não agrupou separadamente para Cristalina, mas foram formados dois grupos de similaridade para Perdizes, para os quais o segundo grupo (grupo b) apresentou apenas duas médias inferiores, a C7 e a C10.

Os teores de β -glucanas na cevada dependem de fatores genéticos (variedade), juntamente com as influências ambientais (BRAZIL, 2015). Segundo Brennan e Cleary

(2005), os níveis de β-glucanas são influenciados pela quantidade de água fornecida às sementes durante a maturação. Ainda há relatos nesse estudo de que foram obtidos baixos teores de β-glucanas com volume hídrico elevado. Enquanto isso, em condições de seca, foram obtidos altos teores de β-glucanas. Güler *et al.* (2003) também constataram o efeito da irrigação no teor de β-glucanas, mas verificaram ainda o efeito do teor de nitrogênio elevado, alegando que, para a cevada cervejeira, as aplicações de nitrogênio devem ser reduzidas. Zhang e Li (2009), por sua vez, afirmaram que a quantidade de água afeta não somente o teor de β-glucanas na cevada, mas também a temperatura média durante o desenvolvimento do grão, a posição dele na espiga e o teor de nitrogênio no solo. Levando em consideração as informações apresentadas, percebe-se que o teor de β-glucanas das amostras utilizadas não sofreram tanta influência dos ambientes, mesmo que o teor de nitrogênio/proteína encontrado tenha sido elevado.

Desse modo, considerando apenas os resultados de β-glucanas, as cultivares avaliadas, podem ser utilizados para a produção de malte. No entanto, é importante lembrar que valores adequados desses componentes não garantem um malte de qualidade. Durante a malteação, a hidrólise da parede celular é a primeira das transformações que ocorrem durante a germinação (JAMAR *et al.*, 2011), ou seja, a qualidade do malte está associada mais diretamente à degradação do conteúdo de β-glucanas do que com à composição em si

4 CONCLUSÕES

As análises para caracterização e qualificação da cevada são importantes para estimar a qualidade final do malte e estabelecer padrões para otimizar o processo de malteação de acordo com a cultivar disponível. Os procedimentos realizados permitiram observar a interferência do ambiente na expressão dos genótipos, o que pode comprometer a qualidade cervejeira da cevada. O conteúdo proteico elevado (maior que 12%, sendo que foram obtidos valores entre 12,81% e 17,73%) e variação no tamanho dos grãos (idealmente 90% superior a 2,5 mm de espessura, dos quais obteve-se resultados entre 37,31% e 95,17%) afetam negativamente o teor de extrato, provocando heterogeneidade na modificação do endosperma durante a malteação, além de baixo rendimento no processo cervejeiro. Sendo assim, selecionou-se a cultivar C8 como a mais indicada para realização do processo de malteação.

CAPITULO 3 – PRODUÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E QUALIFICAÇÃO DO MALTE DE CEVADA

1 INTRODUÇÃO

A fabricação de cerveja depende de muitos fatores que impactam diretamente a sua qualidade. Uma das etapas cruciais é o controle de limpeza e assepsia, juntamente com o processo adotado, principalmente os procedimentos relacionados às matérias-primas utilizadas. Antes de serem comercializados, os insumos devem passar por análises rigorosas para determinar a qualidade e as características dos materiais. Com o malte, não é diferente: a malteação deve fornecer um material de qualidade que se enquadre nas especifícações do tipo de malte desejado (GHESTI *et al.*, 2017).

Além de fornecer resultados para o controle de qualidade, as análises do malte proporcionam uma avaliação do processo malteiro, permitindo, ao cervejeiro, prever a sua utilização na produção. Os dados obtidos antes do processo revelam informações sobre como conduzir o processo, permitindo a realização de ajustes quando necessários. No caso do processo cervejeiro, com base nessas informações, são criadas as receitas e estimados o rendimento e as características do produto final (BRIGGS, 1998). Desse modo, a obtenção de um malte de qualidade depende das características da cevada utilizada, que constituem fatores cruciais para estabelecer as condições de malteção.

No Brasil, a Instrução Normativa n° 11, de 13 de março de 2013, criada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelece o Regulamento Técnico do malte de cevada. A Normativa em questão determina o padrão oficial de classificação, a amostragem, o modo de apresentação, a marcação ou rotulagem, e os requisitos de qualidade de malte: umidade, peso hectolítrico, impurezas, matérias estranhas e grãos avariados (BRASIL, 2013). No entanto, os requisitos de qualidade citados pela legislação têm como foco a comercialização, e não as características intrínsecas do malte destinado à produção de cerveja. Para a caracterização das qualidades industriais do malte (físico-químicas, sensoriais e fisiológicas), utilizam-se métodos analíticos oficiais e padronizados, tais como os estabelecidos pela Convenção Europeia de Cervejaria (*European Brewery Convention* – EBC), pela Sociedade Americana dos Químicos de Cervejaria (*American Society of Brewery Chemists* – ASBC), pela Comissão de Análise de Produção de Cerveja na Europa Central (*Mitteleuropäische Brautechnische Analysen Kommission* – MEBAK) ou pelo Instituto de Cerveja (*Institute of Brewing* – IOB) (PORTO, 2011).

Os manuais publicados pelas instituições citadas possuem diversos procedimentos de análises para a caracterização e a habilitação dos insumos utilizados na fabricação de cerveja. Entre os mais utilizados para a avaliação de malte, listam-se os seguintes procedimentos: classificação, teor de umidade, extrato de malte, tempo de sacarificação, teor de proteínas, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, proteína solúvel, índice de Kolbach, FAN (*free amino nitrogen* – aminoácidos livres, em português), poder diastásico, pH do mosto, viscosidade do mosto, turbidez do mosto, β-glucanas no mosto, friabilidade do malte e teor de grãos vidrosos (MEBAK, 2011; PORTO, 2011; AMABILE, 2013; EBC, 2018). No entanto, para análises mais específicas, ainda podem ser realizados outros procedimentos.

Após a realização de todas as análises e a confirmação da qualidade do material, o malte está pronto para ser comercializado. Levando em consideração a revisão apresentada, este capítulo aborda a malteação da cevada cultivada no Cerrado e a apresentação das análises desse malte. O intuito é estudar a viabilização dessa cevada a fim de justificar a construção de uma maltaria na região, verificando se o ambiente de cultivo impacta positivamente ou negativamente esse processo e/ou proporciona características diversas para o produto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

2.1.1 Amostras

As amostras de cevada utilizadas para desenvolver o projeto foram selecionadas a partir dos resultados obtidos das análises de cevada apresentados no capítulo 2 deste trabalho. Entre os 10 cultivares analisados anteriormente – levando em consideração a interação dos genótipos com as condições edafoclimáticas das duas localidades de cultivo, Perdizes-MG e Cristalina-DF – aquele que apresentou melhores respostas foi a variedade Abi Voyager (C8). Os materiais utilizados foram aqueles denominados anteriormente de CC8 e CP8, referindo-se ao cultivo em Cristalina e Perdizes, respectivamente.

2.1.2 Reagentes

- Solução de amido 2% ([C₆H₁₀O₅]_n, Sigma-Aldrich);
- Tampão acetato (pH 4,3) ácido acético (CH₃CO₂H, Sigma-Aldrich);

- Solução de hidróxido de sódio 1 mol L⁻¹ (NaOH, Sigma-Aldrich);
- Indicador de timolftaleína 0,5% timolftaleína (C₂₈H₃₀O₄, Sigma-Aldrich) e etanol
 96% V/V (CH₃CH₂OH, Sigma-Aldrich);
- Solução de iodo 0,1 mol.L⁻¹ iodo (I₂, Sigma-Aldrich) e iodeto de potássio (KI, Sigma-Aldrich);
- Solução de iodo 0,01 mol.L⁻¹ iodo (I₂, Sigma-Aldrich) e iodeto de potássio (KI, Sigma-Aldrich);
- Solução de ácido sulfúrico 0,5 mol.L⁻¹ (H₂SO₄, Sigma-Aldrich);
- Solução de tiossulfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ tiossulfato de sódio (Na₂S₂O₃.5H₂O,
 Sigma-Aldrich) e tetraborato de sódio (Na₂B₄O₇.10H₂O, Sigma-Aldrich);
- Kit de determinação de β-glucanas NovaBiotec® contém a solução A (complexo de cor) e cinco soluções padrão;
- Solução de cloreto de sódio 5 g/L (NaCl, Sigma-Aldrich);
- Reagente de cor fosfato de sódio bibásico hidratado (Na₂HPO₄.12H₂O, Sigma-Aldrich); fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄, Sigma-Aldrich); ninhidrina (C₉H₆O₄, Sigma-Aldrich) e D-frutose (C₆H₁₂O₆, Sigma-Aldrich);
- Reagente de diluição iodato de potássio (KIO₃, Sigma-Aldrich) e etanol 96% V/V (CH₃CH₂OH, Sigma-Aldrich);
- Solução de glicina glicina (NH₂CH₂COOH, Sigma-Aldrich).

2.1.3 Equipamentos

- Peneiras de furação oblonga de 2,2 mm, 2,5 mm e 2,8 mm (EAGRI);
- Moinho de discos (Buhler Miag DisC Mill DLFU 23050);
- Classificadora de cevada (Tecnoma);
- Friabilímetro (Pfeuffer GmbH Kitzngen);
- Balança analítica (Precisa XB 220A);
- Mosturador (Fluxo Tecnologia FT2072);
- Densímetro digital (ANTON PAAR DMA 4500);
- Espectrofotômetro (HEWLETT PACKARD 8453);
- Viscosímetro de queda de bola Höppler (QUANTOTEC Visco Ball);
- pHmetro (DENVER UB 10 MpH-03).

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Micromalteação

As micromalteações foram realizadas nas instalações de micromalteio do laboratório LaBCCERva do Instituto de Química da Universidade de Brasília (UnB). As duas amostras, CC8 e CP8, foram submetidas ao mesmo programa de malteação desenvolvido a partir de adaptações aos procedimentos utilizados por Farzaneh *et al.* (2017) e ao método de micromalteção 1.5.3 do manual MEBAK (2011), visando adequá-lo aos resultados obtidos para as cevadas estudadas.

Inicialmente, as amostras foram submetidas à limpeza manual com auxílio de uma peneira de furação oblonga com largura de 2,2 mm (EAGRI). Separaram-se, então,1.200 g de cada uma das amostras, que foram submetidas à imersão em 10 L de água a 13 ± 1 °C para atingir um teor de umidade entre 42% e 26%. O plano de maceração utilizado intercalava períodos úmidos e secos – plano em horas 8/12/6/10/6 –, totalizando 42 horas (a primeira imersão foi realizada à temperatura ambiente – 8 horas a 25 ± 1 °C). Para acompanhar a absorção de água, realizaram-se as pesagens dos materiais após os períodos secos, ou seja, 20, 36 e 54 horas, e a determinação do grau de maceração (teor de umidade) foi obtida a partir da Equação 23.

Em seguida, os grãos foram transferidos para a etapa de germinação, cuja temperatura foi mantida em 13 ± 1 °C. Passados três dias, um terço de cada material foi transferido para secagem, e o mesmo procedimento foi realizado após cinco e sete dias. O plano de secagem utilizado foi o mesmo em todas as etapas, inciando em 50 ± 1 °C e mantendo a temperatura por 16 horas. Posteriormente, elevou-se a temperatura para 60 ± 1 °C durante 60 min; em sequência, para 70 ± 1 °C por 60 min; e, por fim, a 80 ± 1 °C por 150 min. Esses procedimentos foram realizados em estufa (OLIDEF). Para a retirada das radículas, realizou-se fricção e peneiramento manual durante três minutos.

2.2.2 Análises de Malte

Após a produção de malte, as amostras foram enviadas para o laboratório central da Cooperativa Agrária Agroindustrial. As análises de malte foram realizadas, certificadas e acreditadas de acordo com o manual de métodos da Convenção Europeia de Cervejaria (Analytica EBC – 2013) e com a coleção de métodos de análise de fabricação de cerveja (MEBAK – 2011), que podem ser encontrados na seção de análises químicas e físicas. Os ensaios realizados foram: classificação, umidade, extrato de moagem fina, tempo de sacarificação, proteínas, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, proteína solúvel, índice de Kolbach, FAN (aminoácidos livres), poder diastásico, pH do mosto, viscosidade do mosto, β-glucanas, friabilidade do malte e teor de grãos vidrosos. A partir dos resultados obtidos para uma mesma amostra, ou seja, entre os diferentes dias de germinação (três, cinco e sete dias), realizou-se a determinação da média.

2.2.2.1 CLASSIFICAÇÃO DE MALTE

A classificação do malte foi realizada de acordo com o método 4.22 do manual da EBC (2005), com adaptações. Inicialmente, as amostras foram homogeneizadas, pesadas em uma balança com duas casas decimais (PRECISA) e colocadas na máquina classificadora, que possui peneiras com furações oblongas (TECNOMA) que permitem a separação dos grãos de acordo com a sua espessura. A expressão dos resultados foi feita para os grãos de primeira qualidade, que é a soma dos grãos de espessura superior a 2,5 mm.

2.2.2.2 TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade do malte foi medido de acordo com o método 4.2 do manual da EBC (2000), com adaptações. Para essa análise, foram utilizadas placas de Petri, estufa (OLIDEF), dessecador e amostras moídas. A análise promove a remoção da água do material. Para calcular o teor de umidade (U), utilizou-se a Equação 24:

$$U \left[\% \left(m/m\right)\right] = \frac{\text{(peso da amostra úmida - peso da amostra seca)} \times 100}{\text{peso da amostra úmida}}$$
(Equação 24)

2.2.2.3 FRIABILIDADE E GRÃOS NÃO MODIFICADOS

A friabilidade e o teor de grãos não modificados foram determinados por um friabilímetro (PFEUFFER), como descrito no método 4.15 do manual da EBC (2015). Para determinar o percentual de grãos não modificados e também os grãos inteiros, as amostras foram limpas, pesadas e colocadas no equipamento.

2.2.2.4 Proteína

O teor de proteína foi medido por combustão, de acordo com o método 4.3.2 do manual da EBC (2004).Para essa medição – com base no princípio Dumas –, utilizou-se um analisador de nitrogênio por combustão, que possui um detector de condutividade térmica (LECO). Para essa análise, foi necessário informar a umidade do material e o fator de conversão de 6,25⁵. Depois, pesou-se 0,2 g de amostra em folha de estanho, que posteriormente foi fechada e colocada no equipamento.

2.2.2.5 Poder Diastático

O Poder diastásico foi realizado como recomendando pela metodologia 4.12 do manual EBC (2006). Inicialmente, foi necessário realizara extração das enzimas. Para isso, as amostras de malte foram homogeneizadas, moídas e colocadas no mosturador (FLUXO TECNOLOGIA), juntamente com água como solvente. Ajustou-se o seu funcionamento de acordo com a rampa de extração das enzimas, como especificado no método. Por fim, as amostras foram filtradas. A partir dos filtrados, foram preparadas as misturas reacionais e os brancos, que posteriormente foram submetidas à titulação iodométrica.

2.2.2.6 Mosto Congresso

O mosto congresso foi obtido conforme a recomendação do método 4.5.2 do manual da EBC (2004). As amostras de malte foram homogeneizadas, moídas e colocadas no mosturador (FLUXO TECNOLOGIA), juntamente com água (solubilização do material). Ajustou-se o seu funcionamento de acordo com a rampa do mosto congresso, como especificado no método. Por fim, as amostras foram filtradas e recolhidas em Erlenmeyers.

Do mosto congresso obtido, foram realizadas as análises de extrato de moagem fina, tempo de sacarificação, nitrogênio solúvel, proteína solúvel, índice de Kolbach, FAN (aminoácidos livres), pH do mosto e viscosidade do mosto.

⁵6,25 é um fator de conversão de nitrogênio/proteína (N:P): assume-se que 1 kg de proteína animal ou vegetal contém 160 g de nitrogênio (SRIPERM, 2011).

2.2.2.6.1 Tempo de sacarificação

O teste de tempo de sacarificação foi realizado durante a obtenção do mosto congresso. Quando a mosturação se estabilizou na temperatura de funcionamento das amilases, acompanhou-se do tempo decorrido, verificando esporadicamente a reação com uma solução de iodo. Quando o resultado é positivo para a reação do amido com o iodo é é preciso realizar o procedimento até que se tenha o resultado negativo, (o que indica, portanto, a sacarificação o de congresso (4.5.2). No manual MEBAK, o método é o 3.1.4.2.4 (2011).

2.2.2.6.2 Extrato de malte

Para a determinação do extrato de malte, deve-se determinar primeiramente a gravidade específica do mosto com um densímetro digital (ANTON PAAR), como específicado no método 8.2.2 do manual EBC (2004). No *display* desse equipamento, foi informada a gravidade específica do mosto, que foi convertido, então, para conteúdo de extrato do mosto (E_m), e ainda para extrato do malte, como descrito nos métodos 8.3 do EBC (2004) e 4.5.1 do EBC (2004).

2.2.2.6.3 pH

O pH do mosto foi medido por um pHmetro (DENVER), como descrito no manual EBC pelo método 8.17. Após o início da filtração do mosto congresso, coletou-se o filtrado, que foi resfriado e submetido a análise.

2.2.2.6.4 Viscosidade

A viscosidade do mosto foi determinada por um viscosímentro de queda de bola – Höppler (QUANTOTEC) –, como descrito no método 3.1.4.4.1 do manual MEBAK. Após o início da filtração do mosto congresso, coletou-se o filtrado, que foi resfriado e submetido a análise. Foi medido o tempo que a bola levava para percorrer determinado percurso entre duas marcações.

⁶O amido complexa-se com o iodo, alterando a coloração da solução (resultado positivo). amilose adquire uma coloração azul forte; enquanto a amilopectina, uma tonalidade de marrom escuro (HOLOPAINEN *et al.*, 2005)

⁷ Conversão do amido presente na solução em açúcares fermentescíveis.

2.2.2.6.5 β -glucanas

A determinação do teor de β-glucanas foi feita de acordo com o recomendado no método 4.16.3 do manual do EBC. Sendo assim, utilizou-se o kit de determinação de β-glucanas da NovaBiotec®, que contém a solução A (complexo de cor) e cinco soluções-padrão.

Inicialmente, para obter a equação linear da curva, foi necessário construir a curva de calibração com as soluções-padrão e o espectrofotômetro (HEWLETT PACKARD). Posteriormente, coletou-se o filtrado do mosto congresso de cada uma das amostras, e prepararam-se as misturas reacionais, lidas no espectrofotômetro no comprimento de onda de 550 nm. Para calcular o teor de β-glucanas, utilizou-se a equação da reta obtida.

2.2.2.6.6 Nitrogênio solúvel

O teor de nitrogênio solúvel foi determinado de acordo com o método 4.9.2 do manual da EBC. Para a utilização do método, fez-se necessário o uso de uma curva de calibração criada para ser utilizada no espectrofotômetro (HEWLETT PACKARD). As determinações foram feitas nos comprimentos de onda de 215 nm e 225 nm, e a diferença entre as absorbâncias obtidas nesses valores foram utilizadas como valores para "x" na equação da reta ($A_{215nm} - A_{225nm}$).

Com a equação da reta em mãos, coletou-se o filtrado do mosto congresso eprepararam-se as misturas reacionais, que foram medidas nos comprimentos de onda especificados.

2.2.2.6.7 Teor de aminoácidos livres (FAN)

O determinação do teor de aminoácidos livres foi feita como recomendado pelo método 8.10.1 do manual EBC. Para a realização do procedimento, foi necessário preparar soluções que contivessem padrões, brancos, e as soluções das amostras. As misturas reacionais e os brancos foram submetidos à leitura no espectrofotômetro (HEWLETT PACKARD) a 570 nm.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MALTEAÇÃO

A micromalteação é o método mais utilizado para determinar o potencial de malteação e a qualidade de uma amostra de cevada. A partir dos resultados obtidos da análise de cevada (apresentados no capítulo 2), é possível avaliar o comportamento do material durante a malteação. No entanto, a qualidade do processo e do produto final não são facilmente determinadas apenas pela observação desses resultados. Desse modo, foram desenvolvidos diversos micros sistemas para simular as condições de malteação, que fornecem estimativas da qualidade do malte produzido. O processo é conduzido em condições específicas e rigorosamente monitoradas, podendo levar até 15 dias, com uma produção entre 100 g e 10 kg, por exemplo (EDNEY, 2012).

O procedimento adotado para as micromalteações foi o mesmo para as duas amostras. Para acompanhar a absorção de água, determinou-se a umidade do material antes do processamento e após cada período seco (após 20, 36 e 54 horas), como expresso na Tabela 21. O programa utilizado atingiu o percentual de umidade necessário (42 – 46%) para dar início à germinação; no entanto, deve-se considerar que a amostra CC8 ultrapassou esse intervalo (47,29%), atingindo um teor de umidade que é utilizado para a produção de maltes escuros (45% – 47%), o que poderia provocar sobremodificação do material (BRISSART *et al.*, 2000).

Tabela 21 – Absorção de umidade durante a maceração.

Umidade das amostras (%)	20 horas	36 horas	54 horas	Esperado
CC8	35,98	43,46	47,29	42.460/
CP8	34,74	42,44	45,64	42-46%

Herb *et al.* (2017a) afirmou que a modificação ⁸ adequada é uma assinatura do malte bem feito, de modo que a supermodificação ou submodificação são indesejadas, pois podem impactar diretamente na cervejaria. Sabe-se que quanto maior é a absorção de água, maior é a solubilização dos nutrientes e a "mobilidade" das enzimas. No entanto, a umidade do grão não fornece informações sobre a distribuição desse conteúdo de água no seu interior. Essa desigualdade na distribuição de água pode ser responsável pela obtenção de maltes submodificados, que acarretarão contratempos durante a produção de cerveja devido à dificuldade em acessar o conteúdo de amido desse material (BRISSART *et al.*, 2000). A

⁸Mudanças desejáveis que ocorrem quando o grão é convertido em malte (BRIGGS, 1998).

modificação dos maltes produzidos neste trabalho será abordada posteriormente em outros tópicos.

Durante a maceração, os grãos são submetidos a aeração, e a temperatura é controlada entre 12 °C e 25 °C, dependendo das características que se pretende obter. A aeração permite a remoção do CO2 e a oxigenação da massa de grãos, tendo em vista que as sementes são seres vivos aeróbicos, isto é, precisam de oxigênio para promover a sua respiração e o seu desenvolvimento (MACLEOD; EVANS, 2016). Quanto à temperatura, sabe-se que afeta diretamente a absorção de água. Quanto mais alta a temperatura, mais rápida é a absorção. No entanto, a taxa de modificação também se eleva, proporcionando uma modificação desigual e ainda mais consumo dos nutrientes. Sabe-se também que, nas primeiras horas, a absorção de umidade é mais rápida, tornando-se mais lenta quando se aproxima da saturação (SCHUSTER, 1962; BATHGATE, 2016). Por esses motivos, adotouse como temperatura da primeira molha a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), a fim de promover a rápida entrada de água no primeiro momento. Depois, reduziu-se a temperatura para 13 ± 1 °C. Tal valor foi adotado com base em estudos prévios. Brissart et al. (2000) reportaram que baixas temperaturas e altos teores de umidade (aproximadamente 46%) estimularam a produção dessas enzimas, em especial a 12 °C, favorecendo a formação de αamilase.

Conclui-se, então, que as adaptações realizadas tinham como objetivo proporcionar melhor qualidade aos produtos obtidos, respeitando as peculiaridades do genótipo e da sua resposta aos ambientes de produção, como apresentado no capítulo 2 deste documento. Entranto, o procedimento adotado foi utilizado para avaliar a capacidade de malteação sob condições-padrão, podendo este não ser o mais indicado para cada uma das cevadas estudadas (MEREDITH *et al.*, 1962). Esse procedimento, no entanto, passa a ser um ponto de partida para a adequação do processo e da variedade utilizada à região de cultivo, objetivando a qualidade de malte em âmbito comercial. Sendo assim, os resultados obtidos a partir das condições adotadas são relatados nas seções a seguir.

3.2 ANÁLISES DE MALTE

As análises de malte foram realizadas com a intenção de avaliar a capacidade de malteação, a qualidade do processo de malteação e ainda caracterizar os maltes produzidos.

3.2.1 Avaliação Físico-mecânica

As avaliações físico-mêcanicas são realizadas através das análises de classificação e friabilidade, as quais determinam as características estruturais do grão (tamanho e "dureza"), e reflete principalmente na homogeneidade do material (MACLEOD; EVANS, 2016). A utilização de malte heterogêneo é de difícil processamento na fábrica, causando baixo aproveitamento do material, ou seja, baixo rendimento, além de outros problemas como aumento da viscosidade, turbidez e uma fermentação prejudicada, ocasionando defeitos na cerveja (EDNEY, 2012).

As cevadas utilizadas neste trabalho apresentavam classificação de primeira qualidade de 81,82% e 95,19% para CC8 e CP8, respectivamente. Após a secagem de cada uma das parcelas (depois da malteação), uma nova classificação foi realizada, e os resultados foram expressos na Tabela 22. Observando os resultados apresentados, percebe-se um aumento no valor de primeira qualidade dos maltes, que se deve justamente à segregação préprocessamento realizada (fragmentos com espessuras menores que 2,2 mm removidos). Além disso, nota-se uma variação no sortimento entre os dias de germinação de uma mesma amostra, o que ficou mais evidente na cevada cultivada em Cristalina, já que apresentava maior percentual de grãos na peneira de 2,5 mm (56,74%) quando comparada a de Perdizes (20,34%). Com o aumento dos dias de germinação, houve aumento das perdas de malteação e a redução de volume foi mais significativa (TAYLOR *et al.*, 2018). Essa redução é causada também pela evolução da modificação do grão com os dias de germinação, proporcionando mais friabilidade ao grão, tornando-o mais quebradiço.

Tabela 22 – Classificação dos grãos expressa em termos de primeira qualidade.

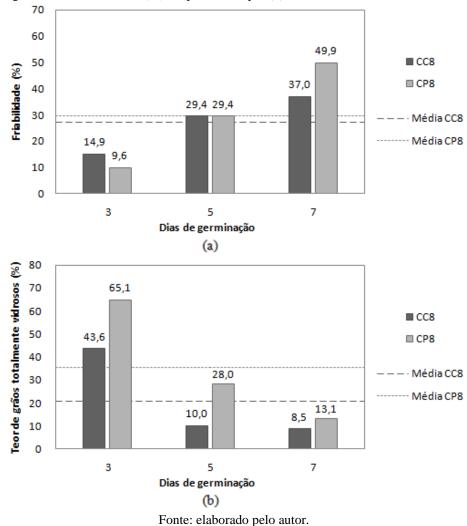
Classificação (%)	Cevada	Malte 3 dias	Malte 5 dias	Malte 7 dias
CC8	81,82	90,8	90,3	89,6
CP8	95,19	96,4	96,4	96,3

Durante a malteação, os grãos aumentaram de volume (espessura e largura) com aelevação do teor de umidade. Por sua vez, ao final do processo, a quantidade de água, que estava incialmente entre 10% e 13%, foi reduzida para valores menores que 8% (BRASIL, 2013). A perda de água, somada às perdas pela remoção das radículas e pela respiração do grão, causaram uma redução do peso da massa total (12%-15%) e também no seu volume (BRIGGS, 1998; EVANS *et al.*, 2014; TAYLOR *et al.*, 2018). O material que entra na produção possui, portanto, resultado de classificação diferente do produto final, o que explica

a redução dos valores no decorrer do tempo de germinação em função da modificação do endosperma.

Como definido, modificação é o termo utilizado para descrever as mudanças que ocorrem no endosperma amiláceo do grão durante a malteação. O friabilímetro é o método mais utilizado para avaliá-la. Atráves da medição determina-se a friabilidade e a quantidade de grãos não modificados (vítreos), estando diretamente ligada a qualidade do malte (FOX *et al.*, 2009). Os resultados obtidos da análise permitiram a construção de gráficos de colunas para mensurar a evolução da friabilidade e da quantidade de grãos vítreos (Figura 13) remanescentes nas amostras após os dias de germinação.

Figura 13 – Resultado da análise realizada com o friabilímetro para os maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação para as cevadas cultivas em Cristalina (CC8) e Perdizes (CP8). A friabilidade (%) é representada por (a); e o teor de grãos totalmente vítreos (%) é representado por (b).



Levando em consideração os resultados da Figura 13, percebe-se a evolução da modificação das amostras. É possível observar uma redução do teor de grãos vítreos, sendo esse o parâmetro mais evidenciado do terceiro para o quinto dia de germinação, no qual houve

redução mais significativa (de 65,1% para 28,0%, e de 43,6% para 10,0%), atingindo valores menores que as médias calculadas (35% para CP8 e 21% para CC8) nesse intervalo de tempo. Por outro lado, o percentual de friabilidade aumentou com o passar dos dias de germinação, o que é condizente com os resultados obtidos por Taylor *et al.* (2018). No terceiro dia de germinação, a CC8 apresentou maior friabilidade (14,9% se comparada à CP8, com 9,6%), mas não garantiu resultado semelhante ao final dos sete dias de processo, quando CP8 apresentou o valor de 49,9%, contra 37,0% da CC8. De acordo com Briggs (1998), Brissart e colaboradores (2000), o teor de proteína elevado torna o endosperma denso e duro, de modo que a absorção de água durante a maceração se torna lenta, e a sua distribuição no interior do grão não seja efetiva e uniforme.

Sá e Palmer (2004) afirmam que a taxa de modificação depende de quatro fatores, sendo eles a distribuição de aguá atráves do endosperma, a taxa de síntese de enzimas hidrolíticas, a extensão da liberação dessas enzimas, e as características estruturais do endosperma. O endosperma amiláceo é formado por células que contêm grânulos de amido imersos em uma matriz proteica (LIZARAZO, 2003; BRAZIL, 2015). Brennan *et al.* (1996) comprovaram que algumas proteínas da cevada estão fortemente ligadas aos grânulos de amido e também as paredes celulares, causando uma compactação do endosperma. Grãos de cevadas que mostraram essa compactação são normalmente mais duros e seu endosperma é então denominado como vítreo. A alta dureza desses grãos impede a distribuição de água e enzimas através do endosperma, retardando os seus processos de degradação e modificação (PSOTA *et al.*, 2007; PIACENTINI, 2015).

As características apresentadas fazem referência a cevadas que possuem elevado teor de proteína e de β-glucanas. A literatura traz valores entre 3% e 7% para as β-glucanas e de até 12% para as proteínas (BRASIL, 1996; ZHANG *et al.*, 2001; WANG; ZHANG, 2009). As cevadas utilizadas apresentam teor elevado de proteína, mas o conteúdo de β-glucanas encontra-se na faixa do esperado. A CC8 possui 4,11% de β-glucanas e 17,47% de proteínas, enquanto a CP8 apresenta 4,35% e 15,57%, respectivamente (Capítulo 2). Quando a matriz proteica e as paredes celulares não são suficientimente degradadas, a distribuição de enzimas no endosperma amiláceo é limitada ou impedida, o que gera uma modificação irregular (SA; PALMER, 2004).

Nessas condições, os maltes produzidos são considerados submodificados, pois não atingiram o mínimo de friabilidade, cujo valor definido é de 80%. Além disso, ultrapassaram o máximo de grãos vítreos estipulados (3%) (ANGER *et al.*, 2009), que são determinantes para uma modificação adequada. Devido ao grau de maceração elevado, de 47,29% para CC8

e de 45,64% para CP8, esperava-se uma sobremodificação após 7 dias de germinação. No entanto, os valores de friabilidade foram extremamente baixos (37,0% para CC8 e 49,9% para CP8).

Sabe-se que mesmo uma quantidade de 5% de grãos não modificados em um malte pode ter impactos negativos na cervejaria. Um malte mal modificado, quando moído, não é idealmente desagregado, ocasionando atraso na sacarificação do amido durante a mosturação, pois o acesso a ele é impedido pela quantidade de proteína e de β-glucanas remanescentes. Esses compostos ainda causam atraso na filtração, pois fornecem mais viscosidade ao mosto, além de causar turbidez indesejada e ocasionar baixo rendimento do processo (BRIGGS, 1998; SA; PALMER, 2004). Esses outros parâmetros serão abordados mais profundamente a seguir.

3.2.2 Avaliação Química

Com os resultados obtidos da análise de proteína apresentadas no capítulo 2, era de se esperar que a modificação do grão fosse prejudicada em razão dos teores elevados, o que foi confirmado com as respostas obtidas pelo friabilímetro. Foi relatado que o teor de proteína elevado torna o endosperma denso e duro, de modo que a absorção de água durante a maceração se torna lenta, e a sua distribuição no interior do grão não seja efetiva e uniforme (BRIGGS, 1998; BRISSART *et al.*, 2000). Buscando relacionar a modificação, a capacidade de malteação e o potencial dos materiais para a produção de cerveja, determinaram-se o teor de proteína dos maltes produzidos, a quantidade de nitrogênio total (NT) e solúvel (NS), assim como o teor de proteínas solúvel (PS), a quantidade de aminoácidos livres (FAN) e o pH. Esses valores estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 – Valores de pH e compostos nitrogenados presentes no malte e valores das suas respectivas solubilizações no mosto.

Evolvess de meltaces		Cristalina				Perdizes			
Evolução da malteação	3 dias	5 dias	7 dias	Média	3 dias	5 dias	7 dias	Média	
Proteína do malte (%)	16,78	16,82	16,10	16,57	14,70	14,83	14,91	14,81	
Nitrogênio total (%)	2,50	2,54	2,45	2,50	2,35	2,37	2,39	2,37	
Nitrogênio solúvel (mg/L)	773	933	1163	956,3	562	764	857	727,7	
Nitrogênio solúvel (mg/100g)	707	841	1041	863,0	515	691	772	659,3	
Proteína solúvel (%)	4,4	5,3	6,5	5,40	3,2	4,3	4,8	4,10	
FAN I.A. (mg/L)	142	194	242	192,6	101	138	162	133,7	
pН	5,85	5,83	5,78	5,82	5,93	5,84	5,81	5,86	

Comparando o resultado do teor de proteína da cevada e dos maltes, o esperado era — devido às perdas do processo — que houvesse uma redução de até 0,5% do valor apresentado

para a cevada em comparação aos maltes (BRIGGS, 1998). Havia essa expectativa porque as radículas, que tem uma proporção maior de proteína e que começam a se desenvolver durante o crescimento do grão, são removidas ao final da secagem. Com essa remoção ao final da secagem, o teor de proteína é reduzido (THOMPSON *et al.*, 2002; JUNG *et al.*, 2003; AGU, 2003). As cevadas utilizadas apresentaram valores de 17,7% e 15,6% (CC8 e CP8, respectivamente), e os maltes produzidos, uma média de 16,57% e 14,81%. Em ambos os casos, devido às perdas, percebe-se a redução nos valores, como esperado. No entanto, esperava-se que a perda fosse maior com o aumento do tempo de germinação, o que não foi identificado. A CP8 mostrou um aumento com a evolução da malteação, e a CC8 apresentou um aumento para o quinto dia (de 16,78% para 16,82%) e uma redução mais acentuada para o sétimo dia, atingindo 16,10%. Considera-se, então, que houve um desvio nos resultados, provavelmente devido aos erros associados às análises ou às incertezas das medições.

O teor de proteína solúvel no mosto depende da quantidade de proteína total do malte (EDNEY, 2012). Muitas literaturas apontam que um bom malte apresenta de 35% a 40% de proteínas solúveis (BRIGGS, 1998; O'ROURKE, 2002; CELUS *et al.*, 2006; EDNEY, 2012). Levando em consideração apenas o percentual de solubilização, os resultados obtidos estariam dentro da faixa do esperado ou abaixo dela (de 6,1% a 7% para CC8, e de 5,5% a 6,4% para CP8, considerando 17,7% e 15,6% como os teores de proteína do malte, respectivamente). No entanto, Kunze (2004) afirmou que cerca de 0,55% a 0,75% do nitrogênio presente no malte (base seca) é solúvel, ou seja, 550-750 mg/100g⁹. Os maltes produzidos apresentam resultados entre 707 e 1041 (CC8) e 515 e 772 (CP8) mg/100g de NS, caracterizando o aumento da solubilização com o aumento do tempo de germinação. É perceptível que a cevada de maior teor protéico (CC8) apresentou valores mais elevados de NS, de modo que apenas o malte com 3 dias de germinação se enquadra no esperado. A CP8, por outro lado, possui apenas o malte de 7 dias de germinação fora da faixa, por ter menor teor de proteína.

As proteínas da cevada são hidrolisadas durante a malteação, formando compostos nitrogenados solúveis (proteínas, peptídeos e aminoácidos). O mosto cervejeiro é composto por aproximadamente de 5% a 6% desses componentes (BRIGGS, 1998; O'ROURKE, 2002; MATHIAS *et al.*, 2014). A proteólise é importante durante a malteação, pois os compostos nitrogenados solúveis são utilizados na formação das enzimas, na nutrição das leveduras durante a fermentação, na estabilidade de espuma da cerveja e ainda nas suas características

 9 Miligramas por 100g de malte isento de água.

organolépticas (AGU, 2003; MACLEOD; EVANS, 2016). Com o aumento do tempo de germinação, houve maior solubilização de nitrogênio no mosto congresso; consequentemente, o teor de proteína solúvel também se elevou, assim como a quantidade de aminoácidos livres (FAN).

Tais constatações são confirmadas por Briggs (1998) e Agu (2003), para os quais a quantidade de proteína solúvel aumenta com o tempo de germinação e também com o aumento de temperatura (ANEXO V). Espera-se que o FAN esteja entre 150-200 mg/L; valores elevados podem ocasionar acidificação do mosto (BATHGATE, 2016). A malteação da CP8 resultou em maltes com 101-162 mg/L, sendo então necessárias modificações no plano de malteação para atingir a recomendação; por outro lado, devido ao elevado teor de proteína, a CC8 obteve 142-242 mg/L para FAN. Conclui-se que a nutrição da levedura não seria prejudicada pela falta de aminoácidos, mas houve uma redução do pH da solução de 5,85-5,78 para CC8, e de 5,93-5,81 para CP8

A extensão da hidrólise das proteínas é afetada pelo teor de nitrogênio do material e,como consequência, interfere na modificação do endosperma (AGU, 2003), o que explica os resultados de friabilidade reportados na Figura 13(a). O alto teor de nitrogênio e a má modificação do endosperma favorecem a redução da digestão do amido pelas amilases, mesmo que a parede celular tenha sido degradada, pois os grânulos de amido podem permanecer embebidos na matriz proteica (YU *et al.*, 2017). Dessa forma, a produção de açúcares fermentescíveis é prejudicada. Dessa forma, o conteúdo de extrado – e portanto, o rendimento do processo – é reduzido.

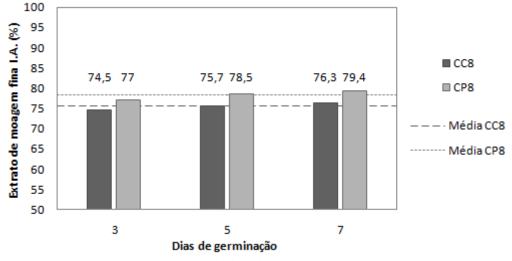
O extrato é provavelmente o principal indicador econômico e de qualidade de um malte. A quantidade de cerveja produzida é porporcional à quantidade de extrato fermentável que é produzido durante a mostura. O propósito, então, é maximizar o rendimento de extratodentro da cervejaria (EVANS et al., 2014). No entanto, sabe-se que esse parâmetro é influenciado por diversos fatores, como as condições ambientais de crescimento da cevada, a composição química do grão e os próprios processos de malteação e de mostura. As condições climáticas interferem no tamanho e na composição do grão, principalmente no seu conteúdo de proteínas, que tem uma relação inversamente proporcional com o conteúdo de extrato (ANEXO VI): quanto maior o teor de proteínas, menor o teor de amido do grão (FOX, 2008).

Na malteação, ocorre a degradação da parede celular e da matriz proteica do endosperma. Em razão disso, o conteúdo amiláceo se torna vunerável, e pode ser hidrolisado pelas amilases (MACLEOD; EVANS, 2016). A amilólise, que ocorre durante a mostura, sofre interferências da qualidade da água utilizada, do tamanho da moagem, do pH, do tempo de

atuação e principalmente da temperatura utilizada no processo. Os fatores citados impactam o funcionamento das enzimas e a solubilização do amido. O pH do mosto deve estar, preferencialmente, entre 5,4 e 5,8 e a temperatura mínima deve ser de 60 °C. Para ser degradado, o amido precisa inicialmente ser gelatinizado, demandando temperaturas superiores a 60 °C (FOX, 2018).

Fox (2008) define o extrato como a quantidade de material solúvel produzido a partir de cevada que foi germinada, seca, moída e submetida à mosturação com água quente. Os produtos de decomposição do amido, dextrinas, maltotriose, maltose e glicose, constituem a maior proporção do extrato, juntamente com outros compostos – entre eles, os nitrogenados (ANGER, 2009). Diante das considerações apresentadas, conclui-se que o extrato dos maltes também foi prejudicado em razão da sua correlação com a friabilidade e com o teor de proteínas do grão. A progressão do extrato está expressa na Figura 14.

Figura 14 – Resultados extrato de moagem fina obtidos a partir da realização do mosto congresso para os maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação, para as cevadas CC8 e CP8.



Fonte: elaborado pelo autor.

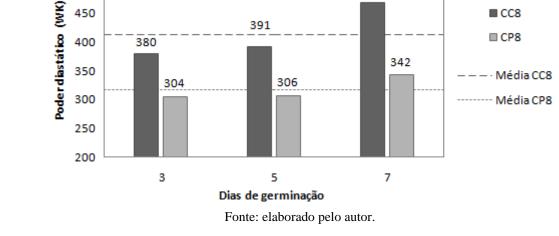
Maltes de boa qualidade possuem o conteúdo de extrato entre 79% e 82% (MITTELEUROPÄISCHE BRAUTECHNISCHE ANALYSENKOMMISSION, 2011). Devido à solubilização dos carboidratos e proteínas, o extrato de moagem fina atinge o valor máximo no quinto dia de germinação. Nesse período, a composição do extrato é, em sua maior parte, de carboidratos fermetáveis. Após esse dia, os teores de nitrogênio solúvel começam a se elevarem razão do consumo de carboidratos simples na respiração dos grãos. Desse modo, os níveis de extrato de cevadas que apresentam condições normais para a malteação (alto percentual de amido e baixa proteína) começam a diminuir, como apresentado no ANEXO VII (BATHGATE, 2016).

Contraditoriamente, Farzaneh et al. (2017) afirmaram que a eficiência de extração eleva-se com o aumento do tempo de germinação. Tal colocação elucida o aumento do conteúdo de extrato para os três dias de germinação dos maltes produzidos. Bathgate (2016) explica que, com o aumento da proteína solúvel,a densidade do mosto aumenta, elevando, consequentemente, o conteúdo de extrato. No caso das cevadas utilizadas, o teor de proteínas esteve fora dos padrões convencionais (>12%), o que resultou em maltes com alto teor de proteínas solúveis e também de nitrogênio solúvel, ou seja, a partir do quinto dia de germinação, a contribuição desses compostos para o extrato foi mais relevante do que o consumo de carboidratos simples pela respiração. No entanto, esses resultados, no geral, não atingiram o mínimo de extrato exigido para um bom malte (>79%). Para CC8, obteve-se de 74,5% a 76,3%. Para CP8, o intervalo foi entre 77,0% e 79,4%. O rendimento mais pronunciado nas amostras de Perdizes (15,6%) é uma consequência da quantidade de proteína da amostra, que é consideravelmente menor que as de Cristalina (17,7%). Isso se deve à relação amido/proteína existente na cevada (FANG et al., 2019).

O conteúdo de extrato está intrisicamente relacionado com a composição do grão, mas também depende da capacidade enzimática gerada durante a malteação. O termo poder diastáticoé utilizado para descrever a atividade das enzimas de degradação do amido, sendo elas α -amilase, β -amilase, dextrinase limite e α -glucosidase (FOX, 2008; FANG et al., 2019). No entanto, Farzaneh et al. (2017) asseguram que 99% da diastase do malte é dada pelas α e β-amilases. Os dados adquiridos para o poder distático estão relatados na Figura 15.

550 500 468 450 CC8 391 □ CP8 400 380 342 350 Média CC8

Figura 15 – Poder distático obtido para os maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação para as cevadas CC8 e CP8.

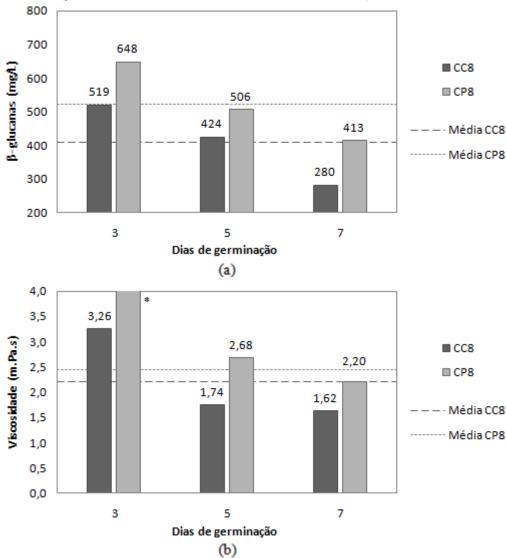


Emebiri et al. (2004) relataram a existência de uma correlação positiva entre o teor de proteínas e o poder diastático do malte. Tal afirmação baseia-se no fato de que enzimas são proteínas que possuem a capacidade de acelerar a quebra de substratos específicos (O'ROURKE, 2002). Durante o processo de malteação, as proteínas são degradadas, e os aminoácidos são reestruturados posteriormente, dando origem a novas estruturas; entre elas, as enzimas (BRIGGS, 1998; MATHIAS *et al.*, 2014).

Dessa forma, as cevadas que possuem mais teor de proteína normalmente têm alto poder diastático. Os resultados apresentados pelos maltes produzidos confirmam essa afirmação, visto que a CC8 apresentou valores mais elevados (380-468 WK) que a CP8 (304-342 WK). Observa-se também a evolução da capacidade enzimática com o passar dos dias da germinação. Resultados semelhantes foram obtidos por Farzaneh *et al.* (2017), que relacionaram esses incremento com a formação de enzimas α-amilase. Sabe-se que a cevada, antes do processamento, já possui o conteúdo de β-amilases estabelecidos, que são ativados e liberados durante a malteação. Em contrapartida, a α-amilase não está presente na cevada. Ela é formada durante a germinação (ANEXO VIII). Nessas condições, o poder diastático é baixo e relativamente estável até o terceiro/quarto dia de germinação. Posteriormente, tem seu valor aumentado, como apresentado na Figura AVIII.1c. Esse fenômeno foi percebido nos resultados obtidos somente após o quinto dia de germinação, o que pode ser explicado pela modificação irregular do endosperma. Os valores abaixo das médias são reportados até o quinto dia de germinação (CC8 – 413 WK e CP8 – 317 WK). Posteriormente, há um crescimento acentuado, chegando a 468 e 342 WK, para a CC8 e a CP8, respectivamente.

O alto teor de proteínas, além de impactar nos parâmetros já citados, também afeta a viscosidade do mosto, juntamente com o alto teor de β-glucanas, que por si só já é precursor do aumento na viscosidade (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; FANG *et al.*, 2019). Por serem substâncias gomosas, elas aumentam a viscosidade do mosto e, consequentemente, da cerveja. O impacto mais relevante é o retardo no processo de filtração, ampliando o tempo de processamento e elevando o custo (PORTO, 2011; JAMAR *et al.*, 2011). Sendo assim, a degradação das β-glucanas durante a malteação é de extrema importância para as cervejas que serão filtradas. É importante relembrar que uma degradação incompleta de β-glucanas pode reduzir o rendimento do malte e, consequentemente, do processo de brassagem, pois impede o acesso das enzimas aos grânulos de amido, gerando então menor teor de extrato, ou seja, açúcares fermentescíveis (JIN *et al.*, 2004). Ferré *et al.* (2000) reportam que a degradação completa da parede celular promove um aumento de 15% a 20% nos carboidratos simples. A redução do conteúdo de β-glucanas e da viscosidade do mosto com o aumento do tempo de germinação está reportada na Figura 16.

Figura 16 – Análises dos maltes produzidos com 3, 5 e 7 dias de germinação para as cevadas cultivas em Cristalina (CC8) e Perdizes (CP8), em que (a) representa as β-glucanas (mg/L), e (b) representa a viscosidade (%). O asterisco (*) indica que o tempo de realização da filtração do mosto foi superior a 60 min, devido à elevada viscosidade (para esse caso, a análise de viscosidade não foi realizada).



Fonte: elaborado pelo autor.

As cevadas utilizadas neste estudo apresentavam teores de 4,11% (CC8) e 4,35% (CP8) de β-glucanas, valores considerados elevados, mas ainda na faixa do aceitável (3% a 4,5%) (FOX, 2008). Logo, presumia-se que a solubilização dessas hemiceluloses no mosto seria excessiva caso houvesse má modificação do endosperma durante a malteação. Comprovou-se que a modificação do malte foi prejudicada, pois os resultados, tanto de β-glucanas quanto de viscosidade, foram superiores ao recomendado, de até 200 mg/L e 1,60 m.Pa.s (KREISZ, 2009), respectivamente, mesmo após 7 dias de germinação para ambas as cultivares.

Contudo, , constatou-se que houve degradação da parede celular, mesmo que parcial, visto que os teores desses parâmetros reduziram-se com o passar dos dias de germinação, isto

é, a presença das enzimas citolíticas foi confirmada durante a malteação. Runavot *et al.* (2011) explicam que o baixo grau de maceração ocasiona má difusão das β-glucanases, que por sua vez, impacta negativamente a degradação das β-glucanas – reduz a degradação. Todavia, o grau de maceração atingido foi elevado: 47,29% para a CC8 e 45,64 % para a CP8, confirmando que a hidrólise não foi prejudicada pela absorção, mas pela má distribuição do conteúdo de água dentro do grão, o que também afeta a distribuição das β-glucanases. Holopainen-Mantila (2015) reporta que as β-glucanas são higroscópicas devido à sua conformação, e que tal fato retarda ou impede a distribuição uniforme da água no endosperma amiláceo.

Quanto ao teor de umidade do malte, ele deve ser determinado para prever o comportamento do material e as condições que devem ser adotadas durante a estocagem e a comercialização. Na comercialização do cereal, a água presente no grão contribui para o aumento do peso, elevando o custo para o cliente (ANGER et al., 2009). A Normativa 11/2013 prescreve que o teor de água do grão não deve ultrapassar 8% e 6%, para malte pilsen e especial, respetivamente (BRASIL, 2013). Esta estratégia é empregada para evitar o desenvolvimento de fungo, proliferação de insetos, e alterações químicas indesejáveis, principalmente durante o seu armazenamento, promovendo uma maior durabilidade do material e além de conservar as suas características iniciais. O teor de umidade também é importante para a determinação dos demais constituintes do malte (proteína, carboidratos, e outros), pois eles são estimados com base no teor de matéria seca (KUNZE, 2004). Os resultados de umidade do malte são abordados na Tabela 24, os quais atingiram o valor estipulado pela legislação, considerando-se que o malte não se encaixa nos parâmetros de malte tipo pilsen.

Tabela 24 – Umidade das cevadas utilizadas e dos maltes produzidos.

Umidade (%)	Cevada	Malte 3 dias	Malte 5 dias	Malte 7 dias	Média	Esperado
CC8	9,30	6,9	5,6	4,9	5,8	z 90/
CP8	10,54	7,0	5,7	5,3	6,0	< 8%

Conclui-se então, que as características apresentadas pelas cevadas utilizadas e os resultados obtidos dos maltes produzidos inviabilizam a ultilização desses materiais para a produção de malte *pilsen*, pois não se enquadram nas legislações vigentes (Portaria 691/96 e Normativa11/2013) nem nas especificações sugeridas pelas organizações de pesquisa (EBC, ASBC, MEBAK ou IOB). No início, utilizava-se basicamente malte *pilsen* para a produção cervejeira, devido aos custos do material e ao seu alto rendimento, mas isso vem mudando com o surgimento das microcervejarias. O alto teor de proteína, principal parâmetro de

inviabilização do material, pode ser revertido em uma vantagem para o mercado, como cremosidade da espuma e coloração diferenciada (PINHEIRO, 2016). Além disso, o alto teor de proteína proporciona poder diastático elevado, ou seja, maior produção de enzimas, podendo substituir parte do malte utilizado com o objetivo de aumentar a produção de extrato. As considerações aqui feitas podem ser utilizadas para justificar a utilização dessas cevadas na produção de maltes especiais, o que acrescenta peculiaridades ao produto, além de agregar valor a ele

Atualmente, na região do Cerrado, já existe uma maltaria, a BR Malte, localizada em Paracatu-MG. São produzidos nela 6 tipos de maltes; entre eles, o *Pilsen* e o *Pale Ale*, considerados maltes-base¹⁰. A maltaria conta com produção de cevada própria, e mesmo que a propriedade esteja localizada no Cerrado, os genótipos cultivados manifestam respostas dentro dos parâmetros esperados, devido ao clima, solo e manejo adequado. A existência de uma maltaria na região confirma o seu potencial para a produção do cereal, mesmo que ainda sejam necessárias pesquisas para a adaptação ou concepção de variedades específicas, tendo em vista a expansão do seu cultivo por todo o território. A empresa contribuiu com a pesquisa ao fornercer laudos de seus maltes-base, de modo que foi possível comparar os resultados obtidos com maltes comerciais que já são produzidos na região (Tabela 25).

Tabela 25 – Resultados das análises de malte produzidos a partir de cevadas cultivadas no Cerrado brasileiro.

Evolveão do moltos são	Cristalina			Perdizes			BR Maltes	
Evolução da malteação	3 dias	5 dias	7 dias	3 dias	5 dias	7 dias	Pilsen	Pale Ale
Umidade (%)	6,9	5,6	4,9	7,0	5,7	5,3	3,4	3,0
Extrato base seca (%)	74,5	75,7	76,3	77,0	78,5	79,4	80,1	79,3
Tempo de sacarific. (min)	10	10	10	**	10	10	10	10
Viscosidade (m.Pa.s)	3,26	1,74	1,62	**	2,68	2,20	1,45	1,45
Nitrogênio total (%)	2,843	2,870	2,941	2,352	2,373	2,386	1,84	1,9
Nitrogênio sol. (mg/100g)	707	841	1041	515	691	772	790	810
Proteína solúvel (%)	4,4	5,3	6,5	3,2	4,3	4,8	4,9	5,1
pН	5,85	5,83	5,78	5,93	5,84	5,81	6,00	5,90

^{**} análises com cujo tempo de realização foi superior ao esperado.

A partir desses dados, observa-se que os maltes produzidos não se enquadram nessas classes. As pesquisas devem continuar, no entanto. Sabe-se que a maior parte dos insumos utilizados para a fabricação de cerveja é importada, incluindo o malte de cevada (VALENTE JR; ALVES, 2016; PINHEIRO, 2016). A continuidade das pesquisas (e o valor a elas atribuído) visareduzir a importação desses insumos e expandir o cultivo nacional,uma vez queo Brasil é o maior importador de cevada do mundo (OEC, 2019). Em razão do crescimento das cervejarias no país, também é preciso levar em consideraçãoquea cadeia

¹⁰Maltes que apresentam coloração baixa, alta eficiência enzimática e alto rendimento de extrato.

produtiva do setor cervejeiro tem demandado cada vez mais matéria-prima. Os resultados obtidos servem, desse modo, para alertar os produtores da região para o potencial de cultivo de cevadas em suas propriedades, desde que se empregue um manejo adequado e que se utilizem cultivares específicas. A expansão do cultivo de cevada também pode proporcionar novas oportunidades comerciais e favorecer a economia brasileira.

4 CONCLUSÕES

A maioria dos resultados foi encontrados abaixo do almejado, se for considerar o objetivo de produzir malte-base do tipo *pilsen* – cujo período de produção varia de quatro a cinco dias – como prevê a Normativa 11/2013 e os métodos analíticos oficiais e padronizados (EBC, ASBC, MEBAK ou IOB). Estas irregularidades são causadas principalmente pela qualidade das cevadas utilizadas que também não atingiram as especificações adequadas – principalmente teor de proteínas de 17,47% e 15,57%, para CC8 e CP8, respectivamente.

O altor teor de proteína (> 12%) não é recomendado para a produção de malte, pois impacta na turbidez e na validade da cerveja, além de dificultar a modificação do grão durante a malteação. Porém, por outra perspectiva, proporciona uma elevada estabilidade de espuma e cor diferenciada, além de alto poder diastático (> 200 WK). Portanto, acultivar em questão apresentou características interessantes visando a produção de maltes especiais — teor de proteína solúvel entre 3,2% e 6,5%, poder diastático atingindo valores mínimos de 304 WK e teores de extratos condizentes com essa classe, com valores entre 74,5% e 79,4%, cujos valores variam entre 73% e 82%, pela literatura que são utilizados em pequenas quantidades em uma produção, ou seja, sem a comprometer (EDNEY; IZYDORCZYK, 2003). Um outro viés é a utilização desses maltes com adjuntos, uma vez que a contribuição destes são relevantes apenas em carboidratos, de modo que se obtenha cervejas com alta bebabilidade, além da redução de custos.

CONCLUSÕES GERAIS

Diante da quantidade de dados, para uma melhor conclusão no âmbito geral do trabalho, a conclusão será apresentada em tópicos sobre todos os aspectos anteriormente reportados:

- A quantificação de proteínas é de extrema importância nas amostra de cevada, uma vez que o seu impacto na cadeia produtiva da ceveja é relevante para o produto final. As metodologias testadas para determinação mostraram bons resultados de correlação entre si (maiores que 0,881), uma vez que as variações apresentadas foram associadas a complexidade da matriz e a erros sistemáticos (amostragem e preparo de amostra).
- Para a quantificação de proteínas de cevada, todas as metodologias apresentadas foram válidas, do ponto de vista agronômico.
- Recomenda-se o uso dos métodos de combustão, por gerarem menos resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente, além de gerar resultados em até 6 minutos, portanto são os mais viáveis para a realização de análises de cevada e malte, de rotina.
- As análises para caracterização e qualificação da cevada estimam a qualidade final do malte e estabelecem padrões para otimizar o processo de malteação de acordo com a cultivar disponível. Através da análise de classificação foi possível observar a interferência do ambiente na expressão dos genótipos, de modo que os fatores ambientais no Distrito Federal afetaram negativamente a qualidade cervejeira da cevada, pelo quesito tamanho de grãos e comprometendo o teor de extrato. A análise também permitiu selecionar quatro cultivares que possuem potencial para produção de malte, sendo estes C7, C8, C9 e C10.
- Os resultados das demais análises: teor de umidade, peso de mil grãos, pré-germinados,
 poder germinativo e energia germinativa não descartam nenhuma das amostras utilizadas.
- Esperavam-se resultados elevados para β-glucanas (> 4,5%) e proteínas (> 12%), no entanto, apenas os valores para proteínas apresentaram esses comportamentos, com valores entre 12,81% e 17,73%, no qual os resultados para Cristalina (15,62 17,73%) foram expressivamente maiores que os de Perdizes (12,81 15,58%). Sendo assim, para esses parâmetros, os melhores resultados foram obtidos pelos genótipos C7 e C10, Todavia, as cevadas de elevado conteúdo protéico não devem ser consideradas inviáveis para a produção de malte, uma vez que podem ser usados na produção de maltes especiais.

- As análises de vitalidade são as mais importantes para a seleção de cevadas com finalidades cervejeiras, uma vez que elas precisam germinar para que as modificações do grão ocorram, para que ao final do processo seja obtido o malte. A partir da vitalidade, as variedades C8 e C10 são as recomendadas para a produção de malte, sendo a C8 apresentou resultados melhores em Cristalina, comparados a C10. No entanto esta última, também apresentou grãos de tamanho menores como reportado nas análises de classificação e peso de mil grãos. Deste modo, a cultivar C8 foi encaminhada para o processamento.
- As considerações fornecidas mostraram a relevância da interação dos genótipos com as condições edafoclimáticas dos locais de cultivo as quais devem ser consideradas antes do plantio da cultura.
- As análises para caracterização e qualificação do malte estimam a capacidade de maltagem de uma cevada, sendo possível estabelecer padrões para aperfeiçoar o processo de malteação de acordo com o material disponível.
- A produção de um mosto padrão, mosto congresso, permite evidenciar o comportamento do malte dando ao fabricante informações de como proceder a produção. As análises de malte normalmente são realizadas em um dia, sendo então consideradas rápidas e de elevado grau de informação. Os resultados obtidos, em sua maioria, estavam abaixo do almejado, visando à produção de malte base, tipo *pilsen* cujo período de produção varia de quatro a cinco dias como previsto pela Normativa 11/2013 e pelos métodos analíticos oficiais e padronizados, EBC, ASBC, MEBAK ou IOB. Estas irregularidades são causadas principalmente pela qualidade das cevadas utilizadas que também não atingiram as especificações adequadas principalmente teor de proteínas de 17,47% e 15,57%, para CC8 e CP8, respectivamente.
- O altor teor de proteína (> 12%) não é recomendado para a produção de malte, pois impacta na turbidez e na validade da cerveja, além de dificultar a modificação do grão durante a malteação. Porém, em outra perspectiva, proporciona uma elevada estabilidade de espuma, cor diferenciada, além de um alto poder diastático (> 200 WK).
- A cultivar manuseada apresentou características interessantes visando a produção de maltes especiais – teor de proteína solúvel entre 3,2% e 6,5%, poder diastático atingindo valores mínimos de 304 WK e teores de extratos condizentes com essa classe, com valores entre 74,5% e 79,4%, cujos valores variam entre 73% e 82%, pela literatura – os

- quais em uma produção são utilizados em pequenas quantidades, ou seja, sem a comprometer.
- Outra alternativa, é a utilização desses maltes com adjuntos, uma vez que a contribuição destes são relevantes apenas em carboidratos, de modo que se obtenha cervejas com alta bebabilidade, além da redução de custos.
- No entanto, se empregado na produção de cerveja, faz se necessário prever o uso de estabilizantes coloidais: silica gel e PVPP (Polivinilpolipirrolidona), enfatizando que haverá perda de produtividade devido ao menor conteúdo de amido.
- Conclui-se então que genótipos diferentes são importantes para a variabilidade de maltes produzidos, pois viabilizam peculiaridades a cada um dos materiais. A expressão desse genótipo perante um determinado ambiente também proporciona características diversas para o produto, garantindo então uma versatilidade de aromas, sabores e cores para o cervejeiro, além de agregar valor ao produto.
- Os resultados obtidos são importantes para conscientizar os produtores da região, visto que as propriedades possuem potencial para o cultivo, quando empregado um manejo e cultivares adequados, além de proporcionar novas oportunidades comerciais e favorecer a economia brasileira.
- Deve-se levar em consideração também que as grandes maltarias do país estão localizadas nos estados RS, PR e SP, as quais distribuem seu produto por cervejarias em todo o território nacional, ou seja, os custos do transporte e armazenamento acabam elevando o valor do produto final (MARTINS et al., 2005; BASTOS, 2018).
- As considerações propostas podem ser utilizadas para justificar a continuidade necessária nas pesquisas de cevada na região, visto que os diagnósticos já apresentam resultados promissores de qualidade e produção, o que viabiliza a construção de uma maltaria no território.

REFERÊNCIAS

- AGU, R. C. Some Relationships Between Malted Barleys of Different Nitrogen Levels and the Wort Properties. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 109, n. 2, p. 106-109, 2003.
- ALIYU, S.; BALA, M. Brewer's spent grain: a review of its potentials and applications. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 3, p. 324-331, 2011.
- AMABILE, R. Cevada: um exemplo de cultura alternativa para o sistema irrigado do Cerrado. *In*: FALEIRO, F. G.; SOUSA, E. D. S. D. (eds.). **Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007b. p. 69-72.
- AMABILE, R. F. **Aproxima-se a safra irrigada com mais de uma alternativa:** a cevada cervejeira. Brasília, 2007a. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2010/29235/1/art-006.pdf. Acesso em: 25 ago. 2018.
- AMABILE, R. F. Caracterização molecular, morfoagronômica e de qualidade de grãos de genótipos elite de cevada irrigada no Cerrado. 2013. Tese (Doutor em Agronomia) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- AMABILE, R. F. *et al.* BRS Deméter: nova cultivar de cevada cervejeira irrigada para o Cerrado do Brasil Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1.247-1.249, 2008.
- AMABILE, R. F. *et al.* Characterization and genetic variability of barley accessions (Hordeum vulgare L.) irrigated in the savannas based on malting quality traits. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 4, p. 404-414, 2014.
- AMABILE, R. F.; CAPETTINI, F.; FALEIRO, F. G. BRS Savanna: new six-rowed malting barley cultivar for irrigated crops in the Brazilian savanna. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 13, n. 2, p. 160-163, 2013.
- AMABILE, R. F.; FALEIRO, F. G. A Cevada Irrigada no Cerrado: estado da arte, recursos genéticos e melhoramento. Brasília: Embrapa Cerrados, 2014.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of Analysis**, Método 32-23.01. Beta-Glucan Content of Barley and Oats Rapid Enzymatic Procedure. Saint Paul, Minnesota, Estados Unidos Método 32-23.01. Beta-Glucan Content of Barley and Oats Rapid Enzymatic Procedure, 11 ed. 1999. Disponível em: http://methods.aaccnet.org/summaries/32-23-01.aspx. Acesso em: 23 set. 2018.
- AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. **ASBC methods of analysis**. Saint Paul, Minnesota, Estados Unidos, 2011. Disponível em: http://www.asbcnet.org/moa/default.aspx. Acesso em: 20 ago. 2018.
- ANDERSSON, A. A. M. *et al.* Chemical Composition and Microstructure of Two Naked Waxy Barleys. **Journal of Cereal Science**, v. 30, n. 2, p. 183-191, 1999.

ANDRADE, J. D.; SANTOS, H. D.; SILVA, A. D. Ensaio nacional de cevada, no Distrito Federal em 1976. 1977.

ANGELINO, S. A. G. F. *et al.* TOTAL NITROGEN CONTENT IN SINGLE KERNEL MALTING BARLEY SAMPLES. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 103, n. 1, p. 41-46, 1997.

ANGER, H. *et al.* Analysis and Quality Control. *In*: EßLINGER, H. M. (ed.). **Handbook of Brewing**. Freiberg: Wiley-VCH, 2009.

ANTONIAZZI, N. *et al.* Ensaio de valor de cultivo e uso (VCU) 3 Embrapa de Cevada, Entre Rios, Guarapuava, PR, 2014. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 30. 2015, **Anais [...]**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2015b.

ANTONIAZZI, N.; MINELLA, E.; NUNES, J. M. Ensaio de valor de cultivo e uso (VCU) 3 Embrapa de Cevada, Entre Rios, Guarapuava, PR, 2013. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 30. 2015, **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2015a.

ANTUNES, J. M. **Cultivares:** como escolher? Mercado de cultivares e sementes, notícias, Passo Fundo, RS, 2018. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias//noticia/34971462/cultivares-como-escolher. Acesso em: 20 set. 2018.

ANTUNES, J. **Nova cultivar de cevada cervejeira.** Notícias, Passo Fundo, 2013. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/1492311/nova-cultivar-de-cevada-cervejeira. Acesso em: 10 ago. 2018.

ARIAS, G. N. Cevada no Brasil. *In*: CUNHA, G. R. (ed.). **Trigo, 500 anos no Brasil**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 1999a. p. 96-100.

ARIAS, G. N. Cevada, uma alternativa de inverno. Comunicado técnico *online*, 11. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 1999b.

BACK, W. et al. Production of brown malt for beer from gluten-free grain e.g. millet, buckwheat, amaranth and/or quinoa comprises adjusting the grain to a soft degree, grounding and kilning the malt. Alemanha. DE20051020639. Deutsches Patent- und Markenamt.

BADR, A. *et al.* On the Origin and Domestication History of Barley (*Hordeum vulgare*). **Molecular Biology and Evolution**, v. 17, n. 4, p. 499-510, 2000

BAMFORTH, C. W. **Beer:** Tap Into the Art and Science of Brewing. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2003.

BASTOS, A. **Infraestrutura em transporte agrícola:** como melhorar no Centro-Oeste?, 2018. Disponível em: https://cargox.com.br/blog/infraestrutura-em-transporte-agricola-como-melhorar-no-centro-oeste. Acesso em: 4 jul. 2019.

BATHGATE, G. N. A review of malting and malt processing for whisky distillation. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 2, p. 197-211, 2016.

- BATISTA, R. D. A. **Produção e avaliação sensorial de cerveja com pinhão (Araucaria** *angustifolia*). 2014. Dissertação (Mestre em Biotecnologia Industrial) Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.
- BEILLOUIN, D. *et al.* Delayed and reduced nitrogen fertilization strategies decrease nitrogen losses while still achieving high yields and high grain quality in malting barley. **European Journal of Agronomy**, v. 101, p. 174-182, 2018.
- BERNARDES, J. A. Novas fronteiras do capital no cerrado: dinâmica e contradições da expansão do agronegócio na região Centro-Oeste, Brasil. **Scripta Nova**, v. 19, n. 507, p. 2, 2015.
- BEZERRA, L. M. C.; CLEPS JUNIOR, J. O desenvolvimento agrícola da região Centro-Oeste e as transformações no espaço agrário do estado de Goiás. **Caminhos de Geografia**, v. 5, p. 29-49, 2004.
- BINGHAM, I. J. *et al.* Is barley yield in the UK sink limited?: II. Factors affecting potential grain size. **Field Crops Research**, v. 101, n. 2, p. 212-220, 2007.
- BLAKE, T. *et al.* Barley Feed Uses and Quality Improvement. *In*: ULLRICH, S. E. (ed.). **Barley:** Production, Improvement, and Uses, John Wiley & Sons, 2011. p. 522-531.
- BRASIL, V. C. B. Estudo do uso de trigo sarraceno cultivado na Região Centro-Oeste para produção de cerveja artesanal. 2016. Monografia (Graduação em Química Tecnológica) Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 11, de 13 de março de 2013. Estabelece o Regulamento Técnico do Malte de cevada. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, n. 50, p. 5, 14 mar. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 54, de 5 de novembro de 2001. Estabelece a identidade e qualidade dos produtos de cervejaria destinados ao consumo humano. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 6 nov. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 691 de 22 de novembro de 1996. Aprova a anexa Norma de Identidade e Qualidade da Cevada. **Diário Oficial da União**: Seção 1, Brasília, DF, p. 24.751-24.752, 25 de nov. 1996.
- BRAZIL, C. Aplicação de β-glucanase em malte produziado a partir das cultivares de cevada BRS Cauê e Elis. 2015. Dissertação (Meste em Tecnologia de Alimentos) Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Londrina, 2015.
- BRENNAN, C. S. *et al.* Structural Differences in the Mature Endosperms of Good and Poor Malting Barley Cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 24, n. 2, p. 171-177, 1996.
- BRENNAN, C. S.; CLEARY, L. J. The potential use of cereal $(1\rightarrow 3, 1\rightarrow 4)$ - β -d-glucans as functional food ingredients. **Journal of Cereal Science**, v. 42, n. 1, p. 1-13, 2005.
- BRIGGS, D. E. Effects of gibberellic acid on barley germination and its use in malting: a review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 69, n. 3, p. 244-248, 1963.

- BRIGGS, D. E. Malts and Malting. 1st ed. London: Black Academic & Professional, 1998.
- BRISSART, R. *et al.* **European Brewing Convention**: Malting Technology, Manual of Good Practice. Nürnberg: Fachverlang Hans Carl, 2000.
- BROOKES, P. A. The significance of pré-harvest sprouting of barley in malting and brewing. **Cereal Research Communications**, v. 8, n. 1, p. 29-38, 1980.
- BUCKEE, G. K. Determination of Total Nitrogen in Barley, Malt and Beer by Kjeldahl Procedures and the Dumas combustion method: Collaborative Trial. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 100, n. 2, p. 57-64, 1994.
- CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY. **ABI Voyager.** Colorado: Fort Collins, 2018. Disponível em: http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/pbrpov/cropreport/bar/app00008802e.shtml. Acesso em: 31 ago. 2018.
- CAPUTO, I. *et al.* Enzymatic strategies to detoxify gluten: implications for celiac disease. **Enzyme Research**, v. 2010, p. 9, 2010.
- CARVALHO, C. G. P. D. *et al.* Interação genótipo x ambiente no desempenho produtivo da soja no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 989-100, 2002.
- CELUS, I.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. The effects of malting and mashing on barley protein extractability. **Journal of Cereal Science**, v. 44, n. 2, p. 203-211, 2006.
- CERVBRASIL. **Anuário 2016**. 2016. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/anuarios/CervBrasil-Anuario2016_WEB.pdf. Acesso em: 3 nov. 2017.
- CHANDRA, S. *et al.* Assessment of Barley Quality by Light Transmission the Rapid LTm meter. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 107, n. 1, p. 39-47, 2001.
- CHANG, S. K. C.; ZHANG, Y. Protein Analysis. *In*: NIELSEN, S. S. (ed.). **Food Analysis**, Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 315-331.
- CORDEIRO, A. Estudos da adubação com NPK nos parâmetros de crescimento, produtividade e estado nutricional da cevada (Hordeum vulgare L.), no cerrado, sob plantio direto. 2006. Dissertação (Mestre em Ciências Agrárias) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- CRUZ, C. D. GENES: A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum.** Agronomy, v. 35, p. 271-276, 2013.
- CRUZ, M. R. Estudo da influência de cultivares da cevada cervejeira na determinação da umidade de equilíbrio. 2015. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

- DA SILVA, A. P. M. **Atividade das desidrogenases de leveduras como parâmetro em teste de toxicidade**. 2018. Dissertação (Mestre em Ciências) Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.
- DA SILVA, D. B. *et al.* **BRS 180:** cevada cervejeira para cultivo irrigado no cerrado. Embrapa Cerrados-Artigo em periódico indexado (ALICE). 2000.
- DA SILVA, F. A. M. *et al.* Clima do bioma Cerrado. *In*: ALBUQUERQUE, A. C. S.; SILVA, E. G. D. (eds). **Agricultura Tropical: Quatro décadas de inovações tecnológicas, intitucionais e políticas**. 1 ed. Brasília DF: Embrapa Informações Tecnológicas 2008. p. 93.
- D'AVILA, R. F. *et al.* Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, 2012.
- DINIZ, L. T. **Efeito adubação nitrogenada, via fertirrigação, no nitrogênio da biomassa microbiana do solo e na qualidade de grãos de cevada**. 2007. Dissertação (Mestre em Ciências Agrárias) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.
- EDNEY, M. J. Barley. *In*: HENRY, R.; KETTLEWELL, P. (eds). **Cereal grain quality**. London: Springer Science & Business Media, 2012.
- EDNEY, M. J. *et al.* Importance of Endosperm Modification for Malt Wort Fermentability1. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 2, p. 228-238, 2007.
- EMEBIRI, L. C. *et al.* The genetic control of grain protein content variation in a doubled haploid population derived from a cross between Australian and North American two-rowed barley lines. **Journal of Cereal Science**, v. 41, n. 1, p. 107-114, 2005.
- EMEBIRI, L. C.; MOODY, D. B. Potential of low-protein genotypes for nitrogen management in malting barley production. **The Journal of Agricultural Science**, v. 142, n. 3, p. 319-325, 2004.
- ETOKAKPAN, O. U.; PALMER, G. H. Comparative studies of the development of endosperm-degrading enzymes in malting sorghum and barley. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 408-417, 1990.
- EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica-EBC**. Nürnberg: Hans Carl. 2018. Disponível em: https://www.analytica-ebc.com/. Acesso em: 23 set. 2018.
- EVANS, D. E. *et al.* The Influence of Malt Quality on Malt Brewing and Barley Quality on Barley Brewing with Ondea Pro, Compared by Small-Scale Analysis. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 72, n. 3, p. 192-207, 2014.
- FANG, Y.; ZHANG, X.; XUE, D. Genetic Analysis and Molecular Breeding Applications of Malting Quality QTLs in Barley. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. 352, 2019.
- FARZANEH, V. *et al.* The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 663-668, 2017.

- FENG, Z.; ZHIQIANG, H. Malt mill for beer brewing. China. CN201721507305U.
- FERRÉ, H. *et al.* A novel type of arabinoxylan arabinofuranohydrolase isolated from germinated barley. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 22, p. 6.633-6.641, 2000.
- FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Agribusiness Handbook:** Barley Malt Beer. Roma. 2009. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/pdf/012/i1003e/i1003e00.pdf. Acesso em: 23 set. 2018.
- FOX, G. et al. Is Malting Barley Better Feed for Cattle than Feed Barley? **Journal of the Institute of Brewing**, v. 115, n. 2, p. 95-104, 2009.
- FOX, G. P. Biochemical and molecular evaluation of quality for malt and feed barley. Tese (Doutor em Fisiologia) Southern Cross University, Lismore, 2008.
- FOX, G. P. *et al.* Selecting for increased barley grain size. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 2, p. 198-208, 2006.
- FOX, G. Starch in Brewing Applications. *In*: SJÖÖ, M.; NILSSON, L. (Eds). **Starch in Food:** Structure, Function and Applications, 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 2018. p. 633-659.
- FRANÇA, L. V. D. **Efeitos da fertirrigação nitrogenada no carbono da biomassa microbiana do solo e nos componentes de produção de genótipos de cevada**. 2007. Dissertação (Mestre em Ciências Agrárias) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasíllia, 2007.
- FRANČÁKOVÁ, H. *et al.* Germination Index as an Indicator of Malting Potential. **Czech Journal of Food Science**, v. 30, n. 4, 2012.
- FUNDAÇÃO AGRÁRIA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cevada ANA 02**. Guarapuava-PR: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, Cooperativa Agrária Agroindustrial: 2 p. 2016b.
- FUNDAÇÃO AGRÁRIA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cevada ANAG 01**. Guarapuava-PR: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, Cooperativa Agrária Agroindustrial: 3 p. 2015.
- FUNDAÇÃO AGRÁRIA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cevada Danielle**. Guarapuava-PR: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, Cooperativa Agrária Agroindustrial: 3 p. 2016a.
- GARCIA, L. *et al.* Comparação entre dois métodos para determinação de nitrogênio em forragem tropical. *In*: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 25., 2015. Fortaleza, 2015.
- GHESTI, G. F. *et al.* **Análise Sensorial para Cervejas**. Brasília: LaBCCERva Laboratório de Bioprocessos Cervejeiros e Catálise em Energias Renováveis Instituto de Química Universidade de Brasília, 2017.

GRAIN TRADE AUSTRALIA. Barley Standards 2013/2014 season. 2013.

GRASHOFF, C.; D'ANTUONO, L. F. Effect of shading and nitrogen application on yield, grain size distribution and concentrations of nitrogen and water soluble carbohydrates in malting spring barley (*Hordeum vulgare L.*). **European Journal of Agronomy**, v. 6, n. 3, p. 275-293, 1997.

GUERRA, A. F. Tensão de água no solo: efeito sobre a produtividade e qualidade dos grãos de cevada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 245-254, 1995.

GUIMARÃES, B. P. Influências do uso de flocos de milho e arroz como adjuntos no processo cervejeiro. Monografia (Graduação em Química Tecnológica) — Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

GÜLER, M. Barley grain β-glucan content as affected by nitrogen and irrigation. **Field Crops Research**, v. 84, n. 3, p. 335-340, 2003.

HAGER, A.-S. *et al.* Gluten free beer – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 36, n. 1, p. 44-54, 2014.

HAOYUAN, Z. **Draft beer dispenser with rapidly-filling function**. China. CN201711090156.

HARRIS, G. The Enzyme Content and Enzymic Transformation of Malt *In*: COOK, A. H. (ed.). **Barley and Malt: Biology, Biochemistry, Technology**. London: Academic Press, 1962. p. 583-694.

HELFAND, S. M.; REZENDE, G. C. D. Padrões regionais de crescimento da produção de grãos no Brasil e o papel da região Centro-Oeste. 2000.

HENDGES, D. H. **Produção de cervejas com teor reduzido de etanol, contendo quinoa malteada como adjunto**. 2014. Tese (Doutor em Biotecnologia Industrial) — Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

HERB, D. *et al.* Malt Modification and its Effects on the Contributions of Barley Genotype to Beer Flavor. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 75, n. 4, p. 354-362, 2017.

HERMES, R. A. **Inside The Brew: Pilot Malt House**. Chicago, Illinois, 2013. Disponível em: https://www.guysdrinkingbeer.com/inside-the-brew-pilot-malt-house/. Acesso em: 10 set. 2018.

HOLOPAINEN, U. R. M. *et al.* Endosperm Structure Affects the Malting Quality of Barley (Hordeum vulgare L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 18, p. 7.279-7.287, 2005.

HOLOPAINEN-MANTILA, U. Composition and structure of barley (Hordeum vulgare L.) grain in relation to end uses. 2015. Tese (Doutor em Ciências das Plantas) – Faculty of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki, Helsinki, 2015.

- HOLTEKJØLEN, A. K. *et al.* Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin. **Food Chemistry**, v. 94, n. 3, p. 348-358, 2006.
- HOLTEKJØLEN, A. K.; UHLEN, A. K.; KNUTSEN, S. H. Barley carbohydrate composition varies with genetic and abiotic factors. **Acta Agriculturae Scandinavica**, **Section B Soil & Plant Science**, v. 58, n. 1, p. 27-34, 2008.
- HOUDE, M. *et al.* Barley protein concentrates: Extraction, structural and functional properties. **Food Chemistry**, v. 254, p. 367-376, 2018.
- IBRAHIM, A. *et al.* Examining the yield potential of barley near-isogenic lines using a genotype by environment by management analysis. **European Journal of Agronomy**, v. 105, p. 41-51, 2019.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Mapa de Biomas e de Vegetação. 2004.
- JACQUES, K. A.; LYONS, T. P.; KELSALL, D. R. **The alcohol textbook:** a reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries. 4th ed. Nottingham: Nottingham University Press, 2003.
- JAMAR, C.; JARDIN, P. D.; FAUCONNIER, M. L. Cell wall polysaccharides hydrolysis of malting barley (*Hordeum vulgare L.*): a review. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 15, n. 2, p. 301-313, 2011.
- JIN, Y.-L. *et al.* Effects of β-Glucans, Shearing, and Environmental Factors on Wort Filtration Performance. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 62, n. 4, p. 155-162, 2004.
- JUNG, S. *et al.* Comparison of kjeldahl and dumas methods for determining protein contents of soybean products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 12, p. 1.169, 2003.
- KASSIE, M.; FANATAYE, K. Nitrogen Uptake and Utilization Efficiency of Malting Barley as Influenced by Variety and Nitrogen Level. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 65-73, 2019.
- KAYS, S. E.; BARTON, F. E.; WINDHAM, W. R. Predicting Protein Content by near Infrared Reflectance Spectroscopy in Diverse Cereal Food Products. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 8, n. 1, p. 35-43, 2000.
- KJELDAHL, J. Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 366-382, 1883.
- KLISCH, R. J. **Gluten-free beer and method for making the same.** Estados Unidos. WO2006US40338. Patent Cooperation Treaty.
- KRAUSOVÁ, I. *et al.* Non-destructive determination of nitrogen in malting barleys by instrumental photon activation analysis and its comparison with the Dumas method. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 1, p. 4-8, 2018.

KREISZ, S. Malting. *In*: EßLINGER, H. M. (ed.). **Handbook of brewing:** processes, technology, markets. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. p. 147-164.

KUNZE, W. Technology Brewing and Malting. 3rd ed. Berlin: VBL Berlin, 2004.

KUUSELA, P. *et al.* A Simulation Model for the Control of beta-Glucanase Activity and beta-Glucan Degradation During Germination in Malting. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 4, p. 309-319, 2004.

LAIDIG, F. *et al.* Breeding progress, genotypic and environmental variation and correlation of quality traits in malting barley in German official variety trials between 1983 and 2015. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 130, n. 11, p. 2.411-2.429, 2017.

LAZARIDOU, A.; CHORNICK, T.; IZYDORCZYK, M. S. Variations in morphology and composition of barley endosperm cell walls. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 13, p. 2.388-2.399, 2008.

LÁZZARI, F. A. Recebimento, Secagem e Armazenagem de Cevada Cervejeira. 2006.

LEAL, S. S. Agroambiental Mato Grosso: Metodologia de Levantamento das Safras de Grãos no Brasil. 2015. Disponível em: https://agroambientalmt.blogspot.com/search?q=METODOLOGIA+DE+LEVANTAMENTO +DAS+SAFRAS+DE+GR%C3%83OS+NO+BRASIL. Acesso em: 28 set. 2018.

LEHTONEN, M.; AIKASALO, R. Beta glucan in two and six rowed barley. **Cereal Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 191-193, 1987.

LIZARAZO, D. X. C. **Parâmetros físico-químicos, germinativos e microestruturais de qualidade em cultivares brasileiros de cevada cervejeira**. 2003. Dissertação (Mestre em Ciências de Alimentos) — Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

LORENCETTI, C. *et al.* Implicações da aplicação de fungicida na adaptabilidade e estabilidade de rendimento de grãos em aveia branca. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 693-700, 2004.

LOTTERMANN, M. T. Purificação e caracterização estrutural de uma α-amilase de Cryptococcus flavus expressa em Saccharomyces cerevisiae "MFL". 2012. Dissertação (Mestre em Biologia Molecular) — Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

LUNARDI, L.; MINELLA, E. **Cultivares de cevada 2008/2009**. Passo Fundo - RS: Embrapa Trigo, 2008. 24.

MACCAGNAN, G. et al. Gluten-free beer. Argentina. ZA19990002543. European Patent, EP0949329.

MACLEOD, L.; EVANS, E. Malting. Reference Module in Food Science: Elsevier, 2016.

MACNICOL, P. K.; JACOBSEN, J. V. Regulation of alcohol dehydrogenase gene expression in barley aleurone by gibberellin and abscisic acid. **Physiologia Plantarum**, v. 111, n. 4, p. 533-539, 2001.

MÆHRE, H. K. et al. Protein Determination - Method Matters. Foods, v. 7, n. 1, p. 5, 2018.

MAGALHÃES, T. A. *et al.* Adaptability and Phenotypic Stability of the Sugarcane RB Genotype by the AMMI Method. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 9, 2018.

MÄLKKI, Y. Trends in Dietary Fibre Research and Development. **Acta Alimentaria**, v. 33, n. 1, p. 39-62, 2004.

MALLETT, J. **Malt:** a practical guide from field to brewhouse. 4th ed. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2014.

MARCUSSO, E. F.; MULLER, C. V. A cerveja no Brasil: O ministérido da agriculta informando e esclarecendo. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017.

MARCUSSO, E. F.; MULLER, C. V. **Anuário da Cerveja no Brasil 2018:** Crescimento e Inovação. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2019.

MARIOTTI, F.; TOMÉ, D.; MIRAND, P. P. Converting Nitrogen into Protein - Beyond 6.25 and Jones' Factors. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 2, p. 177-184, 2008.

MARTINS, A. P.; ARAÚJO, J. A. D.; SANTOS, L. C. D. M. D. **O mercado de cervejas artesanais: no Brasil e em Santa Catarina**: Cenários 2018-2020. Santa Catarina: Sebrae, 2018.

MARTINS, D. D. O. Variabilidade genética de cultivares brasileiras de aveia branca com adaptabilidade e estabilidade à produtividade de grãos, incidência de afídeos e severidade de manchas foliares pelo uso de fungicida. 2016. Monografia (Graduação em Agronomia) — Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2016.

MARTINS, R. S. *et al.* Decisões estratégicas na logística do agronegócio: compensação de custos transporte-armazenagem para a soja no estado do Paraná. **Revista de Administração Contemporânea**, v. 9, p. 53-78, 2005.

MATHIAS, T. R. D. S.; DE MELLO, P. P. M.; SÉRVULO, E. F. C. Nitrogen compounds in brewing wort and beer: A review. **Journal of brewing and distilling**, v. 5, n. 2, p. 10-17, 2014.

MATOS, D. A. D. *et al.* Fécula de batata como adjunto de malte na fabricação de cerveja. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. v. 23, n. 1, p. 161-172, 2005.

MCCLEARY, B. V.; CODD, R. Measurement of $(1 \rightarrow 3)$, $(1 \rightarrow 4)$ -β-D-glucan in barley and oats: A streamlined enzymic procedure. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 55, n. 2, p. 303-312, 1991.

MEREDITH, W. O. S.; ANDERSON, J. A.; HUDSON, L. E. Evaluation of Malting Barley. *In*: COOK, A. H. (Ed.). **Barley and Malt: Biology, Biochemistry, Technology**. 1st ed. London: Academic Press 1962. p. 207-270.

MILLER, A. Enzyme activity (dehydrogenases) involved in respiration reduces TTC to formazan red. TZ CHESMISTRY. Saskatoon. 2004.

MINELLA, E. **BRS Quaranta: cevada cervejeira**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2016.

MINELLA, E. Cevada BRS Korbel. Passo Fundo: Embrapa, 2015

MINELLA, E. **Cevada BRS Manduri:** tipo agronômico, potencial de rendimento e excelência em qualidade de malte. Passo Fundo: Embrapa, 2011.

MINELLA, E. *et al.* Anais: Cultivar BRS Cauê. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 27., 2009, Passo Fundo. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009b.

MINELLA, E. *et al.* BRS Manduri: nova opção varietal de cevada cervejeira para produção irrigada. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 28., 2011, Guarapuava. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011.

MINELLA, E. *et al.* BRS Quaranta: nova opção de cevada cervejeira para a Região Sul do Brasil. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 31., 2017, Guarapuava. **Anais [...]**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2017a.

MINELLA, E. *et al.* Cultiva de BRS Sampa. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 27., 2009, Passo Fundo. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009a.

MINELLA, E. Melhoramento da cevada. *In*: BOREM, A. (ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa-MG: Embrapa Trigo, 1999. p. 253-272.

MINELLA, E.; COSTAMILAN, L. M.; EICHELBERGER, L. BRS Kalibre: nova cultivar para produção irrigada de cevada cervejeira. *In:* REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 31., 2017, Guarapuava. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2017b.

MINELLA, E.; LUNARDI, L. Cevada BRS Cauê: tipo agronômico, alto potencial de rendimento e qualidade de malte. Passo Fundo: Embrapa, 2009.

MINELLA, E.; LUNARDI, L. Cevada cervejeira de qualidade BRS Brau: tipo agronômico, alto potencial de rendimento e qualidade de malte. Passo Fundo: Embrapa, 2010b.

MINELLA, E.; LUNARDI, L. Cultivares de cevada 2010/2011. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2010a.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **CultivarWeb:** Registro Nacional de Cultivares. Brasília, 2017. Disponível em: http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php. Acesso em: 16 jul. 2019.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Edital Probio 02/2004.** Projeto executivo B.02.02.109. Mapeamento de cobertura vegetal do bioma Cerrado: relatório final. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2007. 93 p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Mapeamento do Uso e Cobertura da Terra do Cerrado:** Projeto TerraClass Cerrado 2013. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2015. 69p.

MIRAGAYA, J. F. G. O desempenho da economia na Região Centro-Oeste. *In*: AL., I. M. C. E. (ed.). **Um olhar territorial para o desenvolvimento:** Centro-Oeste. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, 2014. p. 424-452.

MITEA, C. *et al.* Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for coeliac disease. **Gut**, v. 57, n. 1, p. 25-32, 2008.

MITTELEUROPÄISHCE BRAUTECHNISCHE ANALYSENKOMMISSION. Raw Materials: Barley, Adjuncts, Malt, Hops and Hop Products. Colletion of Brewing Analysis Methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK). Freising-Weihenstephan: MEBAK, 2011.

MOLINA-CANO, J. L. *et al.* Genetic and Environmental Variation in Malting and Feed Quality of Barley. **Journal of Cereal Science**, v. 25, n. 1, p. 37-47, 1997.

MONTANUCI, F. D. *et al.* Experimental analysis and finite element simulation of the hydration process of barley grains. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 44-49, 2014.

MONTEIRO, V. A. **Diversidade genética de acessos de cevada sob sistema de produção irrigado no Cerrado do planalto central brasileiro**. 2012. Dissertação (Meste em Agronomia) — Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

MOURÃO, J. **Polissacáridos da parede celular dos cereais na alimentação do Gallus domesticus**. Tese (Doutor em Ciência Animal) — Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2000.

MÜLLER, C. V. **O controle oficial de fraudes em cerveja no Brasil** – estudo de caso. 2018. Dissertação (Mestre em Tecnologias Químicas e Biológicas) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

MÜLLER, C. V.; MARCUSSO, E. F. **MAPA Informa:** As Cervejarias Continuam a Crescer. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018.

NEVES, L. E. P. **Identificação de Compostos Voláteis Associados à Maturação de Cerveja em Madeira**. 2018. Dissertação (Mestre em Tecnologias Químicas e Biológicas) — Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2018.

- NEWMAN, C.; NEWMAN, R. A brief history of barley foods. **Cereal foods world**, v. 51, n. 1, p. 4-7, 2006.
- NEWMAN, R. K.; NEWMAN, C. W. **Barley for food and health:** Science, technology, and products. 1st ed. New Jersey John Wiley & Sons, 2008.
- NOVACK, M. M. E. **Avaliação nutricional de grãos de cevada submetidos a diferentes processamentos**. 2010. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- O' ROURKE, T. The function of enzymes in brewing. **BREWER INTERNATIONAL**, v. 2, p. 14-18, 2002.
- OBSERVATORY OF ECONOMIC COMPLEXITY. Which countries import Malt? (1995-2017). 2019. Disponível em: https://oec.world/en/visualize/line/hs92/import/show/all/1107/1995.2017/. Acesso em: 3 jun. 2018.
- OLIVEIRA, A. B. D.; CUNHA, G. H. D. M.; CONSTANTINO, M. Cerrado brasileiro: um estudo exploratório nas políticas para o seu desenvolvimento. **Contribuciones a las Ciencias Sociales**, 2017.
- PALAGI, F. S. Disposição construtiva aplicada em válvula de controle de pressão por contra-peso utilizada em equipamento para produção de cerveja. Brasil. CN201711090156.
- PASSARELLA, V. S.; SAVIN, R.; SLAFER, G. A. Breeding effects on sensitivity of barley grain weight and quality to events of high temperature during grain filling. **Euphytica**, v. 141, n. 1, p. 41, 2005.
- PIACENTINI, K. C. Fungos e micotoxinas em grãos de cevada (*Hordeum vulgare L.*) cervejeira, descontaminação pelo gás ozônio e segurança de cervejas artesanais. 2015. Dissertação (Mestre em Ciências de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990.
- PINHEIRO, L. D. G. S. Caracterização e processamento de cevada cultivada no cerrado brasileiro. 2016. Dissertação (Mestre em Tecnologias Químicas e Biológicas) Insituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- PINTO, A. R. M. Avaliação do processo de secagem no fabrico de malte: caso de estudo da Sociedade Central de Cervejas e Bebidas, SA. 2013. Dissertação (Mestre em Engenharia Alimentar) Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2013.
- PORTAL BRASIL. Centro-Oeste produz 42% da safra de grãos e é o principal polo agrícola do País. Economia e Emprego Safra 2014/2015, 2015. Disponível em:

- http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2015/10/centro-oeste-produz-42-da-safra-degraos-e-e-o-principal-polo-agricola-do-pais. Acesso em: 29 set. 2018.
- PORTO, P. D. D. **Tecnologia de fabricação de malte:** uma revisão. 2011. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Algre, 2011.
- POURNOSRAT, R. *et al.* Geographical and environmental determinants of the genetic structure of wild barley in southeastern Anatolia. **PLOS ONE**, v. 13, n. 2, p. E0192386, 2018.
- PROCESSO INDUSTRIAL. **Cerveja artesanal, cevada no Brasil**. 2017. Disponível em: https://processo-industrial.blogspot.com/2017/06/cerveja-artesanal-cevada-no-brasil.html. Acesso em: 4 nov. 2018.
- PRYSTUPA, P. *et al.* Environmental control of malting barley response to nitrogen in the Pampas, Argentina. **International Journal of Plant Production**, v. 12, n. 2, p. 127-137, 2018.
- PSOTA, V. *et al.* Relationship Between Grain Hardness and Malting Quality of Barley (*Hordeum vulgare L.*). **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 1, p. 80-86, 2007.
- QI, J. C.; ZHANG, G. P.; ZHOU, M. X. Protein and hordein content in barley seeds as affected by nitrogen level and their relationship to beta-amylase activity. **Journal of Cereal Science**, v. 43, n. 1, p. 102-107, 2006.
- REIS, E. F. L. D. **Produção e análise de cerveja artesanal utilizando adjunto de milho cultivado na região Centro-Oeste brasileira**. 2017. Monografia (Graduação em Química Tecnológica) Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- RESENDE, M. D. V. D.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.
- REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 31., 2017, Guarapuava. **Anais** [...]. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2017. 106 p. Tema: Indicações técnicas para a produção de cevada cervejeira nas safras 2017 e 2018.
- REVISTA DA CERVEJA. **Brasil bate o número de mil cervejarias registradas**. 2019. Disponível em: https://revistadacerveja.com.br/brasil-bate-o-numero-de-mil-cervejarias-registradas/. Acesso em: 23 jul. 2019.
- RODRIGUEZ, M. *et al.* Genotype by environment interactions in barley (*Hordeum vulgare L.*): different responses of landraces, recombinant inbred lines and varieties to Mediterranean environment. **Euphytica**, v. 163, n. 2, p. 231-247, 2008.
- RUNAVOT, J.-L. *et al.* Impact of Low Hydration of Barley Grain on β-Glucan Degradation and Lipid Transfer Protein (LTP1) Modifications During the Malting Process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 15, p. 8.256-8.264, 2011.

- RURAL PECUÁRIA. **Utilização da Cevada na Alimentação Animal**. Bovino Cultura de Leite, 2010. Disponível em: http://blog.ruralpecuaria.com.br/2010/12/i-ntroducao-obtencao-de-alimentos-de.html. Acesso em: 11 set. 2018.
- RUSSELL, I.; BAMFORTH, C.; STEWART, G. Whisky: Technology, Production and Marketing. New York: Elsevier, 2003.
- RUTHERFORD, P. et al. Total nitrogen. In: CARTER, M. R.; GREGORICH, E. G. (Eds). **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 239-250.
- SÁ, R. M.; PALMER, G. H. Assessment of Enzymatic Endosperm Modification of Malting Barley Using Individual Grain Analyses. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 1, p. 43-50, 2004.
- SÁEZ-PLAZA, P. *et al.* An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part I. Early History, Chemistry of the Procedure, and Titrimetric Finish. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 178-223, 2013a.
- SÁEZ-PLAZA, P. *et al.* An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 224-272, 2013b.
- SAHA, U. K.; SONON, L.; KISSEL, D. E. Comparison of Conductimetric and Colorimetric Methods with Distillation Titration Method of Analyzing Ammonium Nitrogen in Total Kjeldahl Digests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 43, n. 18, p. 2323-2341, 2012.
- SAYD, R. M. Variabilidade, parâmetros genéticos e caracterização agronômica e molecular de genótipos de cevada nua (*Hordeum vulgare L. var. nudum Hook. f.*) sob irrigação no Cerrado. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- SCHMIDT, M. *et al.* Prediction of malting quality traits in barley based on genome-wide marker data to assess the potential of genomic selection. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 129, n. 2, p. 203-213, 2016.
- SCHUSTER, K. Malting Technology *In*: COOK, A. H. (ed.). **Barley and Malt: Biology, Biochemistry, Technology**. 1 ed. London Academic Press, 1962. p. 271-302.
- SCOBIE, M. N.; JONES, M. G. K. Identification of Barley Varieties by Protein Profiling. *In*: ZHANG, G.; LI, C. (eds). **Genetics and Improvement of Barley Malt Quality**: Springer, 2010. p. 99-112.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.
- SILVA, L. C. **Agais.com:** Fungos e micotoxinas em grãos armazenados. Viçosa, 2005. Disponível em: http://www.agais.com/fungos.htm#T1. Acesso em: 10 set. 2018.

- SIMONNE, A. H. *et al.* Could the Dumas Method Replace the Kjeldahl Digestion for Nitrogen and Crude Protein Determinations in Foods? **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 73, n. 1, p. 39-45, 1997.
- SIMONNE, E. H.; HARRIS, C. E.; MILLS, H. A. Does the nitrate fraction account for differences between Dumas-N and Kjeldahl-N values in vegetable leaves? **Journal of Plant Nutrition**, v. 21, n. 12, p. 2527-2534, 1998.
- SKOOG, D. A. et al. Princípios de análise instrumental. 6. ed. Bookman, 2002.
- SMITH, K. A.; TABATABAI, M. A. Automated instruments for the determination of total carbon, hydrogen, nitrogen, sulfur, and oxygen. *In*: SMITH, K. A.; CRESSER, M. S. (eds). **Soil and Environmental Analysis: Modern Instrumental Techniques.** New York: Marcel Dekker, 2004. p. 235-282.
- SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. **IAC busca redução de tempo no desenvolvimento de cultivares de cafés especiais**. Notícias, São Paulo, SP, 2015. Disponível em: http://www.sna.agr.br/iac-busca-reducao-de-tempo-no-desenvolvimento-de-cultivares-de-cafes-especiais/. Acesso em: 10 out. 2018.
- SOLE, S. *et al.* **An Alternative Procedure for Detecting Pregerminated Grains in Barley**. PRAGUE POSTER LAYOUT. Sandy, 201-.
- SRIPERM, N.; PESTI, G. M.; TILLMAN, P. B. Evaluation of the fixed nitrogen-to-protein (N:P) conversion factor (6.25) versus ingredient specific N:P conversion factors in feedstuffs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 7, p. 1.182-1.186, 2011.
- STEINER, E. *et al.* Comparison of beer quality attributes between beers brewed with 100% barley malt and 100% barley raw material. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 803-813, 2011.
- SULLIVAN, P.; ARENDT, E.; GALLAGHER, E. The increasing use of barley and barley by-products in the production of healthier baked goods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 29, n. 2, p. 124-134, 2013.
- TANCREDO, J. T. Estudo de caso de melhoria na etapa de secagem de uma maltaria no **RS**. 2015. Monografia (Graduação em Engenharia Química) Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
- TAYLOR, J. P. *et al.* A study on malt modification, used as a tool to reduce levels of beer hordeins. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 124, n. 2, p. 143-147, 2018.
- THOMPSON, M. *et al.* A comparison of the Kjeldahl and Dumas methods for the determination of protein in foods, using data from a proficiency testing scheme. **Analyst**, v. 127, n. 12, p. 1.666-1.668, 2002.
- TUNES, L. M. D. *et al.* Armazenabilidade de sementes de cevada colhidas em diferentes épocas. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 3, 2010.

ULLRICH, S. E. **Barley:** Production, improvement, and uses. 1st ed. Chichester, John Wiley & Sons, 2010.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. **EU-28**: Grain and Feed Annual. Attaché Reports (GAIN). United States Department of Agricultural, 2018a.

UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. **World Agricultural Production**. World Production, Markets, and Trade Reports. United States Department of Agriculture. WAP 10-18, 2018b.

VALENTE JR, A. S.; ALVES, F. C. D. Bebidas alcoólicas: Cerveja. *In*: NORDESTE, B. D. (ed.). **Caderno Setorial ETENE**: Banco do Nordeste, 2016.

VAN DONKELAAR, L. H. G. *et al.* The use of enzymes for beer brewing: Thermodynamic comparison on resource use. **Energy**, v. 115, p. 519-527, 2016.

VASCONCELOS, Y. **Inovações cervejeiras** Pesquisa FAPESP, 2017. Disponível em: http://revistapesquisa.fapesp.br/2017/01/09/inovacoes-cervejeiras/. Acesso em: 10 out. 2018.

VEIT, P. Processo de Fabricação de Cerveja Sem Glúten. Brasil. BR1020130031828. Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

VON BOTHMER, R. et al. **Diversity in barley** (*Hordeum vulgare*). 7th ed. Amsterdam: Elsevier, 2003.

WAGNER, E. O programa de desenvolvimento dos cerrados e sua contribuição à produção de grãos e proteína animal: EMBRAPA, CPAC. 1982.

WALKER, C. K.; PANOZZO, J. F. Development of a small scale method to determine volume and density of individual barley kernels, and the relationship between grain density and endosperm hardness. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 3, p. 311-316, 2011.

WALKER, C. K.; PANOZZO, J. F. Measuring volume and density of a barley grain using ellipsoid approximation from a 2-D digital image. **Journal of Cereal Science**, v. 55, n. 1, p. 61-68, 2012.

WANG, J. M.; ZHANG, G. P. β-glucans and Arabinoxylans. *In*: ZHANG, G.; LI, C. (eds). **Genetics and improvement of barley malt quality**: University Press, Springer, 2009. p. 113-142.

WATSON, M. E.; GALLIHER, T. L. Comparison of Dumas and Kjeldahl methods with automatic analyzers on agricultural samples under routine rapid analysis conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 13-14, p. 2007-2019, 2001.

WAURECK, A. Interferência da classificação e do armazenamento na qualidade de sementes de cevada. 2015. Dissertação (Mestre em Agricultura) – Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2015.

XIE, Z. *et al.* Salicylic acid inhibits gibberellin-induced alpha-amylase expression and seed germination via a pathway involving an abscisic-acid-inducible WRKY gene. **Plant Molecular Biology**, v. 64, n. 3, p. 293-303, 2007.

YU, W. *et al.* Relationships between protein content, starch molecular structure and grain size in barley. **Carbohydrate Polymers**, v. 155, p. 271-279, 2017.

YU, W. *et al.* The adsorption of α -amylase on barley proteins affects the in vitro digestion of starch in barley flour. **Food Chemistry**, v. 241, p. 493-501, 2018.

ZALE, J. *et al.* Summary of barley malting quality QTLs mapped in various populations. **Barley Genetics Newsletter**, v. 30, p. 44-54, 2000.

ZHANG, G. et al. Cultivar and Environmental Effects on $(1\rightarrow3,1\rightarrow4)$ -β-D-Glucan and Protein Content in Malting Barley. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 3, p. 295-301, 2001.

ZHANG, G.; LI, C. Genetics and improvement of barley malt quality. 1st ed: University Press, Springer, 2009.

ZHENGRONG, L. Beer automatic brewing equipment. China. CN201810354685.

ANEXO I

1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA CEVADA

1.1 CARBOIDRATOS

Os carboidratos são a maior fonte de energia da cevada, e são os compostos que mais influenciam o planejamento do processo de malteação e a qualidade final do malte (PORTO, 2011). Eles constituem cerca de 80% do peso seco do grão e estão localizados principalmente no endosperma (LIZARAZO, 2003). Os carboidratos encontrados na cevada são: amido, celulose, hemiceluloses e açúcares (KUNZE, 2004; PORTO, 2011).

1.1.1 **Amido**

Figura AI. 1 – Estrutura da amilose (A) e da amilopectina (B).

Fonte: Lottermann (2012).

O polissacarídeo de maior proporção encontrado no grão é o amido, representando cerca de 50% a 65% do seu peso seco. É composto por dois tipos de polímeros de α -D-glucose: a amilose e a amilopectina (LIZARAZO, 2003; KUNZE, 2004; PORTO, 2011; BRAZIL, 2015). A amilose (Figura AI.1A) é uma cadeia longa e essencialmente linear, na qual 99% das ligações entre as moléculas de glicose são do tipo α (1 – 4) (LOTTERMANN, 2012). Por outro lado, a estrutura da amilopectina (Figura AI.1B) é mais complexa, pois são cadeias formadas por ligações do tipo α (1 – 4), ramificadas por ligações do tipo α (1 – 6) (BAMFORTH, 2003; ZHANG; LI, 2009). Cerca de 95% das ligações glicosídicas da amilopectina são α (1 – 4), e 5% das ligações são α (1 – 6) (LOTTERMANN, 2012). A

relação amilose/amilopectina depende da origem botânica do amido em questão. Consequentemente, as características físicas e químicas podem diferir entre os tipos de amido (LOTTERMANN, 2012; PINHEIRO 2016).

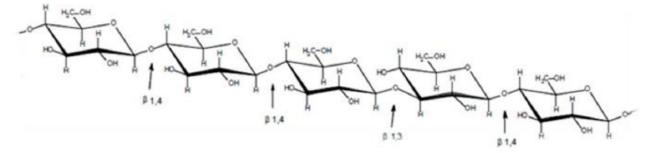
O amido é formado pelo processo de fotossíntese durante o amadurecimento do grão e fica armazenado na forma de grânulos de tamanhos diversificados. Esses grânulos, no entanto, não são compostos apenas de amido. Eles são imersos em uma matriz proteica e são envoltos por uma membrana de hemicelulose (LIZARAZO, 2003; KUNZE, 2004; PORTO, 2011).

1.1.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são responsáveis por 90% a 95% da composição da parede celular do endosperma (LAZARIDOU *et al.*, 2008; ZHANG; LI, 2009). A sua função principal é estrutural, dando sustentação e resistência às paredes celulares. As hemiceluloses são formadas por uma mistura de polissacarídeos, sendo eles β-glucanas e pentosanas (KUNZE, 2004, PORTO, 2011).

1.1.2.1 β -GLUCANAS

Figura AI. 2 – Estrutura básica das β -glucanas com a indicação das ligações β (1 – 3) ou β (1 – 4).



Fonte: adaptado de Brazil (2015).

As (1-3)(1-4)- β -glucanas, ou β -glucanas, são polissacarídeos lineares compostos por resíduos de β -glucopiranose que podem estar ligados pelo carbono 3 ou 4, formando ligações glucosídicas β (1-3) ou β (1-4). Essa alternâcia entre as ligações proporciona uma forma irregular para o composto, o que dificulta a formação de ligações de hidrogênio entre eles, tornando-o solúvel em água (MOURÃO, 2000; PORTO, 2011; BRAZIL, 2015). As ligações do tipo β (1-3) ocorrem com menos frequência que as β (1-4). Segundo Mourão (2000), a relação entre elas varia de 1:1 a 1:4, dependendo do cereal em questão e das condições que foram submetidos. Na cevada, 30% das ligações são β (1-3), enquanto 70%

são β (1 – 4) (BRENNAN; CLEARY, 2005; ZHANG; LI, 2009; BRAZIL, 2015). A Figura AI.2 mostra a estrutura básica das β -glucanas.

Os teores de β-glucanas na cevada dependem de fatores genéticos (variedade), juntamente com as influências ambientais (BRAZIL, 2015). Lehtonen e Aikasalo (1987) relataram que as cevadas de duas fileiras apresentaram teores elevados de β-glucanas quando comparadas às de seis fileiras. No Cerrado, Amabile *et al.* (2014) reportaram, em cevadas dísticas e hexásticas, valores de 25 a 270 mg L⁻¹. Segundo Brennan e Cleary (2005), os níveis de β-glucanas são influenciados pela quantidade de água fornecida às sementes durante a maturação. Nesse estudo, ainda há relatos de que, com volume hídrico elevado, obteve-se baixos teores de β-glucanas, enquanto em condições de seca, foram obtidos teores elevados. No entanto, Zhang e Li (2009) afirmaram que não somente a quantidade de água afeta o teor de β-glucanas na cevada, mas também a temperatura média durante o desenvolvimento do grão, a posição deste na espiga e o teor de nitrogênio no solo.

As enzimas responsáveis por romper a estrutura das β -glucanas são as β -glucanases, que estão presentes no próprio grão (BRAZIL, 2015). Segundo Zhang *et al.* (2001), o conteúdo de β -glucanas no mosto não depende somente do seu teor no endosperma, mas também do teor e da atividade das β -glucanases no processo de malteação, para que a degradação seja efetiva.

A degradação das β-glucanas durante a malteação é de extrema importância para as cervejas que serão filtradas. É importante considerar também que uma degradação incompleta de β-glucanas pode reduzir o rendimento do malte e, consequentemente, o processo de brassagem, pois impede o acesso das enzimas aos grânulos de amido, gerando, então, menor teor de extrato, ou seja, açúcares fermentescíveis (JIN *et al.*, 2004). Elas também aumentam a viscosidade do mosto e, consequentemente, da cerveja, por serem substâncias gomosas. Portanto, o impacto mais relevante, é o retardo no processo de filtração. No caso da cevada cervejeira, esperam-se, então, baixos teores de β-glucanas, para evitar afeitos negativos na eficiência na produção de cerveja (PORTO, 2011). Todavia, sabe-se que não são só as β-glucanas que impactam a qualidade da cerveja. O seu conteúdo em nitrogênio é igualmente relevante.

1.2 COMPOSTOS NITROGENADOS

Os composto nitrogenados na cevada são bastante variavéis podendo atingir valores entre 7% e 25%. Sabe-se que essa variação é causada por fatores genéticos e ambientais, e ainda por aplicação de fertilizantes (BRIGGS, 1998; NEWMAN; NEWMAN, 2008). Os fertilizantes à base de nitrogênio e enxofre aumentam a síntese de compostos nitrogenados, como os aminoácidos, que são as unidades estruturais das proteínas (LIZARAZO, 2003; FOX, 2008; ZHANG; LI, 2009). Quanto aos fatores ambientais, sabe-se que o estresse hídrico, as altas temperaturas e a baixa umidade do ar podem elevar o teor de proteínas e ainda levar a uma diminuição no tamanho do grão (MOLINA-CANO *et al.*, 1997; PASSARELA *et al.*, 2005; QI *et al.*, 2006).

Os compostos nitrogenados são de extrema importância e podem ser divididos em proteínas e compostos de nitrogênio não-proteico (NEWMAN; NEWMAN, 2008). Existem diversos métodos para quantificação de nitrogênio em materiais orgânicos, entre os quais os mais comuns são os métodos de combustão ou por digestão. O teor de nitrogênio encontrado nesses métodos é também chamado de teor de proteína bruta, quando o resultado é multiplicado por um fator padrão de 6,25, que não está relacionado a nenhum alimento específico (BRIGGS, 1998; THOMPSON *et al.*, 2002). Esse valor (6,25) é um fator de conversão de nitrogênio/proteína (N:P), e assume que 1 kg de proteína animal ou vegetal contém 160 g de nitrogênio (SRIPERM, 2011).

1.2.1 Proteínas

As proteínas são polímeros de aminoácidos de alto peso molecular. Os aminoácidos estão ligados uns aos outros por uma ligação formada entre o grupo carboxila e o grupo amina do próximo aminoácido. Essas ligações são chamadas de peptídicas e desempenham diversas funções, como por exemplo, estruturais e metabólicas (AMABILE, 2013). Sendo assim, participam da maioria dos processos biológicos: estão envolvidas na formação e na manutenção das células e dos tecidos, atuam como enzimas, hormônios, neurotransmissores, transportadores através das membranas, e proporcionam nitrogênio para o desenvolvimento do embrião durante a germinação (NEWMAN; NEWMAN, 2008; NOVACK, 2010).

O teor real de proteína equivale a 80% – 85% do teor de proteína bruta, sendo então responsável por 8% – 20% do peso do grão seco (NEWMAN; NEWMAN, 2008; HOUDE *et al.*, 2018; YU *et al.*, 2018). A proteína encontrada em diversas partes do grão, sendo na casca

a menor quantidade, enquanto no gérmen e no endosperma encontram-se os maiores teores. Aproximadamente 60% das proteínas estão no endosperma: cerca de um terço está na camada de aleurona, enquanto o restante forma uma matriz proteica ao redor dos grânulos de amido, principalmente na região sub-aleurona (BRIGGS, 1998).

Alguns tipos de hordeínas são as principais responsáveis por essa redução na taxa de degradação do amido, mesmo a temperaturas elevadas durante a produção de cerveja. As hordeínas são divididas em quatro grupos individuais: A, B, C e D. As mais relevantes na brassagem são as do tipo B e D, responsáveis pela formação dos géis durante a mosturação. Elas podem causar retardo no tempo de filtração do mosto, além de reduzir a degração do amido. Outro fator relevante é que o aminoácido prolina é um importante componente da hordeína e pode proporcionar o crescimento de microrganismos que contaminam as leveduras e, consequentemente, a cerveja. O fator mais relevante para o acúmulo de prolina na cevada é o estresse hídrico – durante o desenvolvimento do grão no campo ou durante a etapa de germinação, na malteção (BRIGGS, 1998; ZHANG; LI, 2009; YU *et al.*, 2018).

As cevadas mais utilizadas na indústria cervejeira são as que possuem teor de proteína entre 10% e 12%. Amostras com teores de proteína muito baixo não são normalmente empregadas para a produção de malte, pois podem afetar o desempenho das leveduras e a estabilidade da espuma da cerveja. A nutrição das leveduras é feita através de aminoácidos, enquanto algumas proteínas promovem uma maior estabilização da espuma. Porém, mesmo com todas as considerações anteriores, o alto teor de proteína também é indesejável para a produção de malte, devido ao baixo teor de extrato que é obtido, o que resulta, portanto, em baixa produtividade (BRIGGS, 1998; KUNZE, 2004; FOX, 2008; ZHANG; LI, 2009). Essas variações são causadas, normalmente, devido à genética dos materiais e das localidades de cultivo (HOLOPAINEN-MANTILA, 2015).

ANEXO II

1 CULTIVARES DE CEVADA CERVEJEIRA

1.1 BRS BRAU

A BRS Brau é um cultivar que foi lançado em 2009 com ampla adaptação à região sul do país (Rio Grande do Sul – RS, Santa Catarina – SC e Paraná – PR) e com potencial produtivo de 6.200 kg ha⁻¹. Possui um porte anão, não ultrapassando 76 cm de altura, o que confere uma boa resistência ao acamamento. Visando obter maior produtividade e grãos com tamanhos maiores, a semeadura deve ser realizada no mês de junho. O espigamento ocorre por volta de 88 dias após a semeadura; e a maturação (ponto de colheita), por volta de 132 dias. É considerada de alto potencial de rendimento e possui qualidade de malte, apresentando classificação média superior a 85% de grãos de primeira qualidade (MINELLA; LUNARDI, 2010a, 2010b).

1.2 BRS CAUÊ

A BRS Cauê é resultante do cruzamento das cultivares BRS 195 e BRS Borema. Lançado em 2008, possui ampla adaptação à região sul do país (Rio Grande do Sul – RS, Santa Catarina – SC e Paraná – PR) e apresenta com potencial produtivo superior a 5.000 kg ha⁻¹. Possui um porte anão, não ultrapassando 70 cm de altura. O espigamento ocorre entre 85 e 90 dias após a semeadura, e o ponto de colheita se dá até o 132° dia. Visando obter maior produtividade e grãos com tamanhos maiores, a semeadura deve ser realizada no mês de junho. É considerada de alto potencial de rendimento e apresenta qualidade de malte, com classificação média superior a 80% de grãos de primeira qualidade (LUNARDI; MINELLA, 2008; MINELLA *et al.*, 2009b; MINELLA; LUNARDI, 2009).

1.3 BRS QUARANTA

A BRS Quaranta possui altura baixa, por volta de 78 cm, e foi lançada em 2015. Essa cevada é considerada de alto rendimento, com potencial produtivo superior a 6.000 kg ha⁻¹, e apresenta alta qualidade de malte, com classificação média superior a 85% de grãos de primeira qualidade. O espigamento ocorre entre 87 e 89 dias após a semeadura, e a maturação

ocorre até o 132° dia, sendo junho o mês ideal para a semeadura, com o objetivo de obter melhores resultados. É um cultivar resultante do cruzamento entre PFC 2001038 e Danuta, e está adaptada para a região sul do país (RS, PR, SC) (MINELLA, 2016; MINELLA *et al.*, 2017a).

1.4 BRS KORBEL

A BRS Korbel é uma cevada que se desenvolve melhor em altitudes superiores a 500m, e possui ampla adaptação à região sul (PR, RS, SC). O espigamento desse cultivar acontece entre 85 e 90 dias após a semeadura, e o ponto de colheita pode ser obtido após o 125° dia, sendo a época mais indicada para a semeadura o mês de junho. Possui um potencial produtivo superior a 7.000 kg ha⁻¹, com classificação média superior a 85% de grãos de primeira qualidade, isto é, trate-se de uma cevada de alto rendimento e qualidade de malte. É considerada de baixo porte por atingir no máximo 80 cm, e foi intoduzida comercialmente em 2013 (MINELLA, 2015).

1.5 BRS ITANEMA

A BRS Itanema pode atingir até 90 cm de altura, sendo considerada de porte médio, e possui ampla adaptação ao cultivo irrigado nas regiões de São Paulo (SP), Minas Gerais (MG), Goiás (GO) e Distrito Federal (DF). Seu ciclo é precoce, apresentando espigamento após, aproximadamente, 65 dias da semeadura e maturação em até 125 dias. Seu potencial produtivo supera 7.000 kg ha⁻¹ e apresenta classificação com média superior a 85% de grãos de primeira qualidade, sendo, portanto, uma cevada de alto rendimento e com qualidade de malte. Esse cultivar foi introduzido comercialmente em 2013. A época mais indicada para o plantio é o mês de abril (ANTUNES, 2013).

1.6 BRS MANDURI

A BRS Manduri foi lançada em 2011 para o cultivo irrigado das regiões de SP, MG, GO e DF. A época mais indicada para o plantio é o mês de maio. Sob condições normais de desenvolvimento, pode atingir até 80 cm de altura (baixo porte). O espigamento ocorre entre o 65° e o 67° dia após a semeadura, e o ponto de colheita é obtido entre 115 e 125 dias. Essa cevada é considerada de alto rendimento, com potencial produtivo superior a 7.000 kg ha⁻¹, e

excelência em qualidade de malte, com classificação média superior a 80% de grãos de primeira qualidade (MINELLA *et al.*, 2011; MINELLA, 2011).

1.7 DANIELLE

A Danielle foi desenvolvida pelo programa de melhoramento da Ackermann, em parceiria com a FAPA, e foi lançada em 2016. A cultivar tem ampla adaptação, mas se desenvolve melhor na região sul do país (Rio Grande do Sul – RS, Santa Catarina – SC e Paraná – PR), com potencial produtivo de 7.000 kg ha⁻¹. Possui um porte anão, não ultrapassando 80 cm de altura. Visando obter maior produtividade e grãos com tamanhos maiores, a semeadura deve ser realizada no mês de junho, em locais com altitude superiores a 800 m. O espigamento ocorre entre 85 e 90 dias após a semeadura; e a maturação (ponto de colheita), por volta de 130 e 135 dias. É considerada de alto potencial de rendimento e apresenta qualidade de malte, com classificação média superior a 85% de grãos de primeira qualidade (FUNDAÇÃO AGRÁRIA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2016a).

1.8 ANAG 01

A ANAG 01 é uma cevada que se desenvolve melhor em altitudes superiores a 800 m, com melhor desenvolvimento na região sul (PR, RS, SC). O espigamento desse cultivar acontece entre 90 e 95 dias após a semeadura e o ponto de colheita pode ser obtido após o 135° dia, sendo a época mais indicada para a semeadura o mês de junho. Possui um potencial produtivo superior a 7.300 kg ha⁻¹, com classificação média superior a 85% de grãos de primeira qualidade, isto é, trata-se de uma cevada de alto rendimento e com qualidade de malte. É considerada de baixo porte por atingir no máximo 90 cm, e foi intoduzida comercialmente em 2015. É um cultivar que foi desenvolvido pelo programa de melhoramento da Ackermann em parceiria com a FAPA (FUNDAÇÃO AGRÁRIA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2015).

1.9 ANA 02

A ANA 02 possui altura baixa, por volta de 80 cm. Lançada em 2016, está adaptada à região sul do país (RS, PR, SC). Ela foi desenvolvida pelo programa de melhoramento da Ackermann em parceiria com a FAPA. Essa cevada é considerada de alto rendimento, com

potencial produtivo superior a 7.300 kg ha⁻¹, e apresenta alta qualidade de malte, com classificação média superior a 80% de grãos de primeira qualidade. O espigamento ocorre entre 85 e 90 dias após a semeadura, e a maturação ocorre até o 135° dia, sendo junho o mês ideal para a semeadura, para obter melhores resultados (FUNDAÇÃO AGRÁRIA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2016b).

1.10 ABI VOYAGER

A ABI Voyager é uma variedade da *Anheuser-Busch InBev* (AB-InBev), desenvolvida pela Recursos Agrícolas Busch (*Busch Agricultural Resources LLC* – Colorado, Estados Unidos da América). Também é conhecida pela sua designação experimental: 2B03-3719 ou TR09402. Lançada comercialmente em 2014, essa cultivar é resultado do cruzamento entre 2B96-5038 e 2B97-4796, que foi conduzido na primavera de 2000, no Colorado (EUA). É uma cevada de baixo porte, de duas fileiras de grãos, e possui crescimento ereto durante o enchimento da espiga (CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY, 2018).

ANEXO III

Figura AIII. 1 – Reações envolvidas no método Kjeldahl.

Digestão

Durante a digestão, ocorrem as seguintes reações:

Destilação

Durante a destilação, ocorrem as seguintes reações:

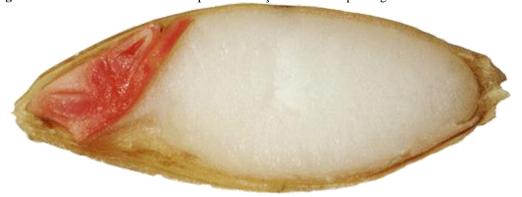
,

Durante a titulação, ocorrem as seguintes reações:

Fonte: dados retirados e adaptados de Galvani e Gaertner (2006).

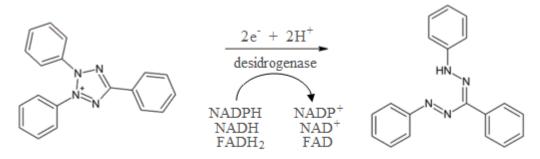
ANEXO IV

Figura AIV. 1 – Semente de cevada após a realização do teste de poder germinativo com tetrazólio.



Fonte: adaptado de Sole et al. (201-).

Figura AIV. 2 – Reação de redução do tetrazólio na análise de poder germinativo.



2,3,5-Trifenil cloreto de tetrazólio (incolor)

1,3,5-Trifenil formazan de tetrazólio (vermelho)

Fonte: elaborado pelo autor.

ANEXO V

Tabela AV. 1 – Influência da temperatura de germinação nas frações de nitrogênio solúvel do malte.

	Temperatura de	Teor de N solúvel pelo tempo de germinação					
	germinação (°C)	0 dias	2 dias	5 dias	9 dias		
N solúvel total (mg/100g)	13	188	359	515	526		
	16	188	380	462	459		
	19	188	453	443	449		
N solúvel permanente (mg/100g)	13	113	234	330	314		
	16	113	253	280	270		
	19	113	294	157	262		

Fonte: dados retirados e adaptados de Kolbach e Schild, (1939 apud Briggs 1998).

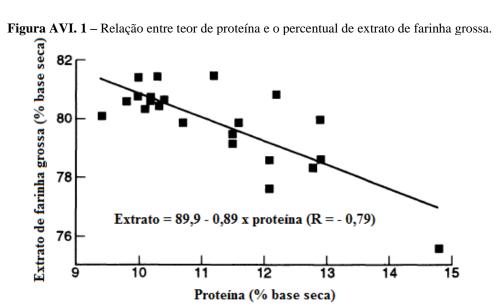
 $\textbf{Tabela AV. 2} - \text{Avalia}\\ \text{ção dos níveis de nitrogênio (\%), nitrogênio solúvel total (\%) e aminoácidos livres (FAN, nitrogênio solúvel total solúvel$

analisados pelos métodos TNBS e ninidrina – mg/L), com a evolução do tempo de germinação.

Parâmetros	Genótipos	Tempo de germinação					
		1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	
Teor de N (%)	Puffin	1,8	1,7	1,6	1,6	1,3	
N solúvel total (%)		0,40	0,60	0,76	0,87	0,92	
FAN - TNBS (mg/L)		68	153	196	233	279	
FAN – Ninidrina (mg/L)		47	88	122	193	196	
Teor de N (%)	Chariot	1,6	1,4	1,2	1,1	1,0	
N solúvel total (%)		0,41	0,51	0,60	0,64	0,65	
FAN - TNBS (mg/L)		62	129	164	182	192	
FAN – Ninidrina (mg/L)		48	95	117	142	140	

Fonte: dados retirados e adaptados de Agu (2003).

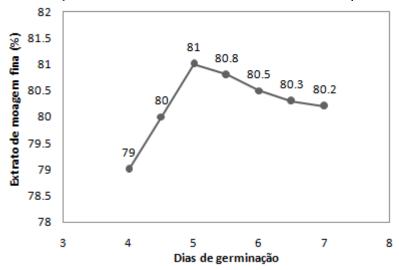
ANEXO VI



Fonte: dados retirados e adaptados de Anon (1987 apud Edney, 2012).

ANEXO VII

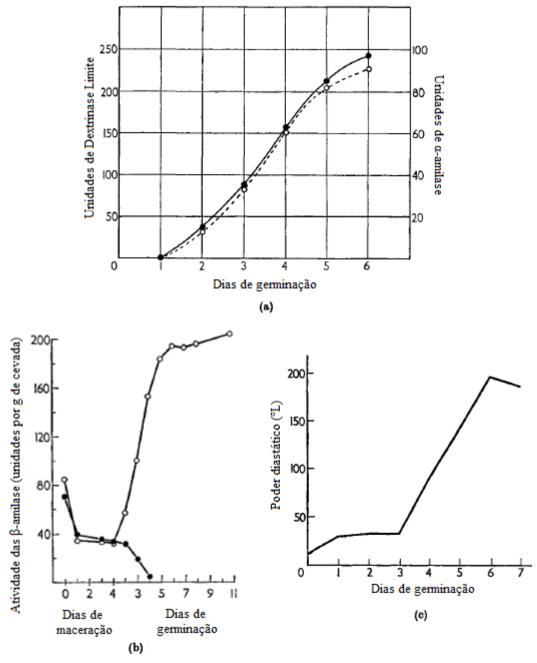
Figura AVII. 1 – Evolução do extrato de farinha fina do malte no decorrer do período de germinação.



Fonte: dados retirados e adaptados de Bathgate (2016).

ANEXO VIII

Figura AVIII. 1 – Desenvolvimento enzimático. (a) Atividade da dextrinase limite (•) em relação à atividade de α-amilase (○) durante a malteação da cevada (KNEEN; SPOERL, 1948). (b) Variação entre β-amilase (○) livre e latente (•) durante a malteação (POLLOCK; POOL, 1958). (c) Poder diastático obtido durante malteação com aeração vigorosa (EVANS, 1901).



Fonte: dados retirados e adaptados de Harris (1962).