

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

BEATRIZ DE OLIVEIRA VARGAS

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO
DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE CERVEJAS TIPO ALE (IPA)**

**PATOS DE MINAS - MG
DEZEMBRO DE 2018**

BEATRIZ DE OLIVEIRA VARGAS

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO
DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE CERVEJAS TIPO ALE (IPA)**

“Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia Campus Patos de Minas como requisito final para obtenção do Bacharel em Biotecnologia”.

Prof. Dr. Marcos de Souza Gomes

PATOS DE MINAS – MG

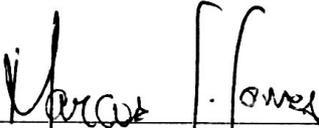
DEZEMBRO DE 2018

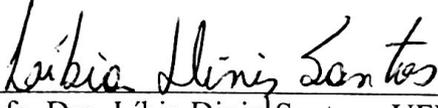
BEATRIZ DE OLIVEIRA VARGAS

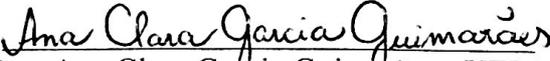
Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação do potencial antioxidante de cervejas tipo Ale (IPA)

“Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia Campus Patos de Minas como requisito final para obtenção do Bacharel em Biotecnologia”.

Banca examinadora:


Prof. Dr. Marcos de Souza Gomes - UFU
Presidente


Profa. Dra. Líbia Diniz Santos - UFU
Membro


Dra. Ana Clara Garcia Guimarães - UFLA
Membro

PATOS DE MINAS, 12 de dezembro de 2018.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por guiar meus passos, por me dar forças para seguir sempre adiante, me abençoando e protegendo sempre.

A minha mãe Marli, que sempre acreditou em mim e me apoiou, me oferecendo a oportunidade de concretizar e encerrar mais essa caminhada da minha vida. Sei que não mediu esforços para que este sonho fosse realizado. Sem a sua compreensão nada disso seria possível. Obrigada!

Ao meu João (*in memoriam*), que infelizmente não pode estar presente neste momento tão feliz da minha vida, mas que não poderia deixar de dedica-lo, pois se hoje estou aqui, devo muitas coisas a ele, por seus ensinamentos e valores passados. Obrigada! Saudades eternas!

As minhas irmãs, Tamiris e Rosana, que apesar das divergências sempre me apoiaram nos momentos difíceis.

Aos meus sobrinhos João Felipe, Pedro Henrique e Luísa, que trouxeram mais felicidade a minha vida, me incentivando ainda mais para esta conquista.

A minha tia Margarete Nívea que sempre me apoiou e incentivou nos estudos e em outras decisões da vida.

Ao meu orientador Marcos Gomes, agradeço imensamente pela paciência, atenção e pelos conhecimentos me passados.

A Profa. Dra. Líbia Diniz, por aceitar o convite para compor minha banca examinadora e pelos materiais fornecidos.

A Profa. Dra. Ana Clara Guimarães, por aceitar o convite para compor minha banca examinadora.

Ao corpo técnico que me auxiliou durante o processo, em especial a Laís Sousa, Marco Aurélio Andrade e Betânia Romão.

Aos meus colegas, Gabriella e João Victor pelo auxílio nos experimentos.

Aos amigos Gustavo Albernaz, Marcelo Afonso e César Helly pelo incentivo para ingressar na UFU e pelo apoio durante toda a graduação.

Ao Willian Elias, amigo que ganhei da UFU, que me ajudou a me desenvolver intelectualmente, agradeço pela paciência, risadas e pelos conselhos.

Ao meu amigo Nicollas Melo, agradeço pelo apoio e conselhos e, principalmente, pelos momentos divertidos, tornando esta fase difícil em algo leve.

Aos meus colegas de turma e amigos que conheci na UFU, agradeço pelos bons momentos passados juntos. Em especial a Daniele Rodrigues, Daniele Freitas, Ailton Pereira, Gustavo Magalhães, Mikaelle Costa e Amanda Pacífico.

Agradeço a UFU e a todos os professores e profissionais que diretamente ou indiretamente fizeram parte da graduação e que me ajudaram, me permitindo crescer e evoluir.

E a todos que contribuíram de alguma forma para que esse trabalho fosse concluído.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

RESUMO

A procura por inovação na produção de cerveja incentivou a busca por matérias-primas que sejam fontes de compostos bioativos. O consumo moderado e constante desses compostos pode ser responsável por diversos efeitos favoráveis à saúde. A adição destes compostos no processo produtivo da cerveja faz com que seja criado um produto com características únicas. Com isso, este estudo teve como objetivo a produção de uma cerveja ale (Índia Pale Ale) e a análise das características físico-químicas e bioquímicas desta, investigando o potencial antioxidante e os compostos fenólicos presentes nesta cerveja, comparando-o com algumas marcas comerciais artesanais. A cerveja artesanal foi produzida em escala laboratorial e passou-se pelos processos de moagem do malte, mosturação, filtração, fervura, decantação, fermentação, maturação, primming e envase. As cervejas (produção própria e comerciais), foram analisadas quanto a suas características físico-químicas (pH, extrato seco, densidade, acidez total e teor alcoólico) e também por análises bioquímicas para determinar a capacidade antioxidante, através do método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), e o teor de compostos fenólicos totais, através do método Folin-Ciocalteu, sendo o ácido gálico o padrão de referência. A amostra de produção própria apresentou os maiores valores em relação a acidez, densidade, extrato seco e teor alcoólico, diretamente ligados ao processo produtivo e a composição da matéria-prima utilizada em sua elaboração. Apesar de uma provável superestimação do valor de fenólicos totais obtidos pelo método Folin-Ciocalteu devido a interferentes na cerveja de produção própria, todas as cervejas analisadas podem ser consideradas boas fontes de compostos fenólicos e, por consequência de antioxidantes.

Palavras-chave: Bebida alcoólica. Cerveja. Compostos fenólicos. Fermentação.

ABSTRACT

The search for innovation in beer production encouraged the search for raw materials that are sources of bioactive compounds. The moderate and constant consumption of these compounds may be responsible for several favorable health effects. The addition of these compounds in the beer production process creates a product with unique characteristics. This study aimed to produce an ale ale (India Pale Ale) and the analysis of the physicochemical and biochemical characteristics of this beer, investigating the antioxidant potential and the phenolic compounds present in this beer, comparing it with some trademarks craftsmanship. The artisanal beer was produced in laboratory scale and went through the processes of malting, mixing, filtration, boiling, decantation, fermentation, maturation, priming and packaging. Beers (own and commercial production) were analyzed for their physico-chemical characteristics (pH, dry extract, density, total acidity and alcohol content) and also by biochemical analysis to determine the antioxidant capacity, using the DPPH method (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), and the total phenolic compounds content by the Folin-Ciocalteu method, with gallic acid being the reference standard. The self-produced sample presented the highest values in relation to acidity, density, dry extract and alcohol content, directly linked to the production process and the composition of the raw material used in its elaboration. In spite of a probable overestimation of the value of total phenolics obtained by the Folin-Ciocalteu method due to interferers in the self-produced beer, all analyzed beers can be considered good sources of phenolic compounds and, consequently, antioxidants.

Keywords: *Alcoholic beverage. Beer. Phenolic compounds. Fermentation.*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA%: Percentual de Atividade Antioxidante
ABV: alcohol by volume
ATP: Adenosina Trifostato
DNA: Ácido desoxirribonucleico
DPPH•: 2,2 difenil-1-picril-hidrazil
EAG: Equivalente ao ácido gálico
ERNs: Espécies reativas de nitrogênio
EROs: Espécies reativas de oxigênio
IBU – *Internacional Bitterness Units* (Unidade Internacional de Amargor)
IR – Índice de Refração
mL: Mililitro
mg: Miligrama
nm: nanômetro
CO₂: Dióxido de carbono
O₂: Oxigênio
OH•: Radical Hidroxil
(v/v): volume/volume
(m/v): massa/volume
°GL: fração de álcool por volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Histórico da cerveja	11
2.2	Classificação e tipos de cerveja	11
2.3	Matérias-primas da cerveja	13
2.4	Leveduras Cervejeiras.....	16
2.5	Processo de produção da cerveja	17
2.6	Radicais livres e antioxidante	24
2.7	Compostos fenólicos.....	25
3	OBJETIVO GERAL	26
3.1	Objetivos Específicos	26
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1	Local da realização dos experimentos	26
4.2	Produção da cerveja	27
4.3	Análises da cerveja de produção própria e das comerciais	30
4.3.1	Obtenção das amostras comerciais.....	30
4.3.2	Preparo das amostras.....	30
4.4	Análises Físico-químicas.....	31
4.4.1	pH	31
4.4.2	Densidade por picnometria.....	32
4.4.3	Extrato Seco Total.....	33
4.4.4	Concentração de etanol – Método espectrofotométrico do Dicromato de Potássio	34
4.4.5	Concentração de etanol – Método de Índice de Refração	35
4.4.6	Acidez total titulável (ATT).....	36
4.5	Análises bioquímicas.....	37
4.5.1	Capacidade antioxidante.....	37
4.5.2	Teor dos compostos fenólicos totais	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é um produto consumido mundialmente, e estudos sugerem que a mesma já era elaborada antes de Cristo, mas não se sabe ao certo o início de sua prática de fabricação (MARTINS, 1991; LIMA e MOTA, 2003). Basicamente, é uma bebida alcoólica carbonatada, produzida por meio da fermentação das matérias-primas: água, malte de cevada e lúpulo, sob ação da levedura (BRASIL, 2009).

No processo de elaboração, há diversas etapas importantes. A etapa que mais se destaca e influencia diretamente no produto final é a escolha do tipo de fermentação. Existem dois tipos de fermentação, a baixa fermentação e a alta fermentação. A primeira ocorre em temperaturas mais reduzidas, as tipo lager, e a segunda ocorre em temperaturas mais elevadas, as tipo ale.

Estudos tem mostrado que o consumo moderado da bebida pode proporcionar efeitos benéficos através das propriedades presentes como, ação antioxidante e anticarcinogênica (GUSMAN, MALONNE, e ATASSI, 2001; BAMFORTH, 2002). Na fabricação da cerveja, dois componentes básicos se destacam neste aspecto, o malte de cevada e o lúpulo, pois apresentam em sua composição compostos bioativos, em especial, compostos fenólicos.

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos químicos, encontrados nas plantas, são classificados pelo tipo e número de compostos fenólicos subcomponentes presentes. Podem ser classificados em flavonoides e não-flavonoides. Os flavonoides: flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas) e não-flavonoides (ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos) e antocianinas e no segundo grupo ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (HEIM, TAGLIAFERRO e BOBILYA, 2002; GARCÍA, GRANDE e GÁNDARA, 2004). Algumas pesquisas têm investigado a associação do consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos e a prevenção de doenças cardiovasculares, doenças relacionadas ao envelhecimento e determinados tipos de câncer, principalmente devido a ação antioxidante (FRAGELL, 1999; TEMPLE, 2000; BAMFORTH, 2002). Além disso, os compostos fenólicos presentes em bebidas, como a cerveja, auxiliam na estabilidade coloidal e no sabor, preservando as qualidades sensoriais da bebida através da ação antioxidante (JANDERA, 2009).

Com isso este estudo teve como objetivo a produção de uma cerveja tipo ale (India Pale Ale) e a análise das características físico-químicas e bioquímicas, investigando o potencial antioxidante e os compostos fenólicos presentes nela, comparando-a com algumas marcas comerciais artesanais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico da cerveja

Há aproximadamente 4000 – 6000 a.C., a fermentação já era realizada por diversos povos, sendo conhecida como uma das práticas mais antigas (TORNIC, 1986). No entanto, não se sabe ao certo a origem da cerveja, mas existem pesquisas que indicam que o preparo da cerveja era realizado há 6000 anos a.C. no Egito, indicando a cerveja com originária de regiões da Mesopotâmia (MARTINS, 1991; LIMA e MOTA, 2003). A cerveja foi desenvolvida em paralelo aos processos fermentativos de outros cereais e difundiu-se juntamente as culturas de centeio, milho e cevada, nas antigas sociedades estáveis. Existem registros sobre o uso da cerveja, na Antiguidade, nos povos da Babilônia, Suméria e Egito (CEREDA e VENTURINI FILHO, 2005). Os sumérios produziam uma massa firme com grãos moídos que, após o cozimento, era consumida como pão. Essa massa, ao ser umedecia e sob a ação do tempo, fermentava, formando uma espécie de “pão líquido”, um tipo de bebida alcoólica. Ainda que distante, essa bebida tem uma semelhança com a atual cerveja (TSCHOPE, 2001).

Na idade média, o lúpulo foi introduzido como matéria prima, conferindo as características básicas da cerveja atual (DRAGONE e SILVA, 2010). Porém, ainda eram utilizados toda espécie de ingredientes na elaboração. Então, no ano de 1516, o Duque Guilherme IV da Bavária (Alemanha), aprovou o que atualmente é conhecido como a lei mais antiga sobre a manipulação de alimentos, a lei da pureza alemã (*Reinheitsgebot*), relacionada com o processo de produção da cerveja. A lei determinava os ingredientes que poderiam ser usados na fabricação: malte de cevada, água e lúpulo (KUNZE, 1999). Em 1808, através da família real portuguesa, a cerveja chegou ao Brasil. Nesta época, a cerveja era importada de países europeus (MORADO, 2011). De acordo com Marcusso e Muller (2017), atualmente, no Brasil, há 679 cervejarias registradas conforme o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA).

2.2 Classificação e tipos de cerveja

A cerveja tem por definição: “bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo”. As cervejas elaboradas são classificadas considerado a cor, a fermentação, o extrato primitivo, o teor alcoólico e o percentual de malte de cevada.

O extrato primitivo (original) ou gravidade original é o extrato do mosto de malte de

origem da cerveja e, depende diretamente da quantidade de material solúvel do malte, proteínas e parte do amido que será convertido em açúcares e dextrinas no mosto. Na classificação do extrato primitivo, as cervejas são consideradas leves quando o extrato primitivo for superior ou igual a 5 % e inferior a 10,5 %. Cervejas comuns possuem entre 10,5 % e 12,5 % de extrato primitivo e as tipo extra apresentam uma porcentagem superior ou igual 12 % e inferior a 14 %. E, para serem consideradas como cervejas do tipo extraforte o extrato seco primitivo deve estar acima de 14 % (BRASIL, 2009).

Na classificação quanto ao teor alcoólico as cervejas que apresentarem o teor alcoólico superior a 0,5 % são consideradas cervejas com álcool e abaixo deste valor são consideradas cervejas sem álcool, sendo obrigatório apresentar no rótulo a porcentagem alcoólica para as consideradas com álcool. Considerando o percentual de malte de cevada como fonte de açúcar, as cervejas puro malte são as que apresentarem 100 % de malte de cevada, as que na composição possuem quantidade superior a 50 % de malte de cevada são chamadas cervejas e as que apresentarem de 20 % e 50 % de malte de cevada, devem ter a palavra cerveja com o nome do cereal predominante utilizado na produção (BRASIL, 2009).

As cervejas tipo Lager são as mais populares, e dentre elas a Pilsener ou Pilsen é mais conhecida mundialmente, criada no ano de 1842 na cidade de Pilsen, antiga Tchecoslováquia. É descrita como um sabor suave, cor clara e com porcentagem alcoólica entre 4 % e 5 %, apresentando aroma e sabor mais suaves, sendo o processo produtivo em temperaturas mais baixas temperaturas (7 a 15 °C). As mesmas são produzidas por fermentação “baixa” ou profunda, pelo processo lento, levando geralmente em média de 3-5 dias (DRAGONE e SILVA, 2010).

As cervejas tipo ale são elaboradas por meio de fermentação “alta” ou superficial, também denominadas como fermentação de “topo”. Geralmente são claras, com sabor pronunciado de lúpulo, ligeiramente ácidas, e a porcentagem alcoólica variando entre 4 % a 8 %. A fermentação ocorre entre 16 °C e 25 °C de temperatura, com duração de 3 a 5 dias, sendo o armazenamento realizado entre 4,5 °C e 8 °C. Nas cervejas tipo ale, tem destaque as: Porter, Stout, Albier, Kolsch e cervejas de trigo (ARAÚJO, 2003; DRAGONE e SILVA, 2010; GIOVENZANA, BEGHI e GUIDETTI, 2014).

Conforme Beer Judge Certification Program - BJCP (2015), nas cervejas tipo ale existem diversas categorias, sendo que, para as American IPA e suas derivadas foi criada a categoria “IPA”. O termo “IPA” é usado como um classificador descritivo de uma cerveja amarga e altamente lupulada e, veio a ser um estilo de balanço definido nas cervejas artesanais modernas. Propositamente, o termo “IPA” não é mais mencionado por extenso, “India Pale

Ale”, pois muitas não apresentam cor clara e, historicamente, nenhuma destas tem origem na Índia. No estilo “IPA” pode-se citar as American IPA e Specialty IPA.

2.3 Matérias-primas da cerveja

Água

A água é considerada o principal constituinte da cerveja, sendo superior a 90 % da sua composição final (BOULTON e QUAIN, 2008; HILL, 2009). Por isso, está é considerada um elemento determinante na produção da cerveja, e anteriormente tinha influência direta no local de instalação da cervejaria, havendo grande valorização na composição da mesma. Entretanto, atualmente com o advento das tecnologias e tratamentos, se a água for imprópria, há a possibilidade de adequá-la aos padrões desejados para o processamento da cerveja (PRIEST e STEWART, 2006).

A água para produzir a bebida deve ser potável, incolor, inodora, insípida e não apresentar qualquer sabor anormal. O pH, alcalinidade e a dureza influenciam diretamente no processamento da cerveja. O pH ideal é entre 4 e 9 aproximadamente, variando com o estilo produzido, a concentração média de cálcio é de 50 ppm e a alcalinidade não deve ultrapassar a 50 ppm. Caso necessário, realiza-se a correção em conformidade com a cerveja a ser produzida, sendo assim, a água terá influência direta nas propriedades sensoriais da bebida (BERNSTEIN e WILLOX, 1977; VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001).

O pH influencia na mostura, extração do lúpulo e na fermentação. O pH alcalino poderá dissolver materiais que estão contidos no malte e nas cascas da cevada, sendo estes não desejáveis ao processo. O pH ácido é necessário para que haja atividade máxima das enzimas no processo. O cálcio e seus sais em excesso são negativos para o processamento da bebida, pois, sofrem reações na presença de fosfato diácido de potássio, formando monoácidos de cálcio e potássio, e gás carbônico, ocasionando a elevação da alcalinidade e reduzindo a ação enzimática. Por consequência, haverá menor degradação das proteínas e uma elevada extração da cor e compostos amargos (PRIEST e STEWART, 2006).

O lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) pertence à família Cannabinaceae, sendo uma planta dióica,

apresentando flores femininas e masculinas em indivíduos diferentes. É considerado perene e do tipo liana, ou seja, necessita de apoio para seu desenvolvimento e, é típico de regiões frias e de difícil cultivo. O lúpulo foi inicialmente utilizado devido a sua propriedade conservante, entretanto, após o seu uso, foram observadas qualidades sensoriais na bebida, relacionadas ao aroma e amargor, acarretando na contínua utilização na sua composição da bebida (CEREDA, 1985; HOUGH, 1985; HORNSEY, 2013).

Os componentes responsáveis pelas qualidades sensoriais do lúpulo encontram-se nas flores femininas, precisamente nas glândulas de lupulina. As frações mais importantes da lupulina são os óleos essenciais e as resinas, responsáveis pelas propriedades aromáticas e de amargor, respectivamente (HOUGH, 1985; KEUKELEIRE, 2000; OETTERER, 2006).

O lúpulo é considerado o componente de maior valor na cerveja, sendo comercializado na forma de cones florais secos, pellets e extratos, sendo os dois últimos mais concentrados e de maior simplicidade na manipulação e armazenamento (DRAGONE e SILVA, 2010). Os lúpulos classificam-se em lúpulos de aroma e amargor. Os lúpulos de amargor são ricos em alfa-ácido variando até 25 % ou mais do peso total do cone de lúpulo. Os lúpulos de aroma tem alto custo comercialmente e apresentam mínimo teor de alfa-ácidos. Entretanto, devido ao rendimento e seu valor comercial tem-se aumentado a busca pelos lúpulos de duplo propósito, ou seja, lúpulos com alto índice de amargor e importantes compostos aromáticos (KUNZE, 1999; KEUKELEIRE, 2000; HUGHES, 2009).

Os óleos essenciais característicos do lúpulo de aroma são uma combinação complexa de mais de 300 componentes aromáticos, sendo na sua maioria terpenos, compostos por hidrocarbonetos. Os lúpulos de aroma influenciam nas características sensoriais da bebida, sendo que seus compostos refinados despertam um aroma singular na cerveja. O lúpulo de aroma normalmente é adicionado ao término da fervura, pois os óleos essenciais são voláteis, evitando-se assim a perda elevada destes compostos, entretanto altas concentrações pode tornar a cerveja desagradável (MOIR, 1994; ROBERTS e WILSON, 2006).

As resinas, predominantes nos lúpulos de amargor são constituídas de ácidos alfa e beta, os alfa-ácidos são nomeados humulonas. Os três alfa-ácidos mais importantes são humulona, cohumulona e adumulona. Os alfa-ácidos sofrem isomerização no decorrer da fervura do mosto gerando formas cis e trans das humulonas produzindo assim, o amargor. Os beta-ácidos não isomerizam, sendo assim, sua contribuição é menos significativa para amargor. Salienta-se que, o sabor amargo na cerveja é resultado de uma mistura de diversos compostos químicos, que sofrem modificações a partir de ações do oxigênio, umidade e do calor, resultando nessa característica (KEUKELEIRE, 2000; HUGHES, 2009).

O lúpulo também apresenta outras ações na cerveja, como a anti-séptica, reduzindo riscos microbiológicos devido a ação bacteriostática dos ácidos iso-alfa. E, contribuindo também, para a estabilização do sabor e espuma da bebida (KEUKELEIRE, 2000).

Cevada e malte

A cevada é uma gramínea da espécie *Hordeum vulgare*, sua cultura é realizada preferencialmente em climas temperados e atualmente para obtenção do malte de cevada leva-se até 9 dias. Na cevada os grãos na espiga podem estar alinhados em duas ou seis fileiras. A cevada que apresenta duas fileiras possui elevada quantidade de amido e menor quantidade de proteínas, além de menos cascas que a cevada que de seis fileiras. Preferencialmente, é utilizada a cevada que contém duas fileiras (VARNAM e SUTHERLAND, 1997; PALMER, 2006).

O processo produtivo do malte é nomeado maltagem, visando desenvolver e ativar enzimas, além de realizar a degradação de substâncias e produção compostos na reação de Maillard, que conferem sabor e cor na cerveja (BOTELHO, 2009). Basicamente, a maltagem consiste no umedecimento do cereal com água seguido de germinação sob condições de umidade, temperatura e aeração, acarretando em alterações físicas e químicas de interesse, havendo assim, uma perda ínfima de energia na respiração (SCHMIDELL, 2001). Então, malte é a definição do produto da germinação de cereais em condições controladas. O nome do cereal utilizado para produção deve ser acrescido junto a palavra malte, exceto a cevada, pois, subentende-se que o malte é advindo da mesma, por ser a principal matéria-prima utilizada (CEREDA, 1985).

Os grãos maltados serão responsáveis pela ativação das enzimas alfa e beta-amilases que irão degradar o amido ao decorrer do processo, convertendo-o em açúcares fermentescíveis (HOUGH, 1985). E também, das enzimas proteolíticas, que realizarão a quebra das proteínas encontradas no mosto que serão usados como nutrientes na levedura na fermentação e, conferindo consistência a espuma na bebida. Além disso, o malte também fornece a casca, que posteriormente é utilizada como material de filtração na clarificação do mosto (CRUZ, 2007; BOULTON e QUAIN, 2008).

No processo, outros cereais podem ser empregados, como milho e trigo, porém, o malte de milho pode apresentar rancidez por ter em sua composição certo teor de lipídeos e o malte de trigo por ser passível a ataques de microrganismos no exterior do grão. Logo, a cevada se apresenta como o cereal ideal, devido a alta porcentagem de amido e proteínas em quantidade e qualidade satisfatória para nutrir as leveduras. Além de apresentar o melhor desempenho na

etapa da maltagem (VENTURI FILHO e CEREDA, 2001).

2.4 Leveduras Cervejeiras

As leveduras são microrganismos eucariotos, predominantemente unicelulares e normalmente, reproduzem-se por brotamento. Estes fungos crescem mais rapidamente que outros e são mais eficientes metabolicamente (CARVALHO, BENTO e ALMEIDA E SILVA, 2006).

As leveduras utilizadas na produção da cerveja pertencem ao grupo dos ascoporogênicos, a família dos *Saccharomyceteae* e ao gênero *Saccharomyces* e, são responsáveis fermentação alcoólica, metabolizando os açúcares fermentáveis e produzindo álcool, dióxido de carbono, energia (ATP) e calor (CURI, 2006). As leveduras apresentam comportamentos diferentes na fermentação, influenciando nas características sensoriais do produto (VARNAM e SUTLERLAND, 1997).

Os especialistas em leveduras consideram que na elaboração de cervejas são usadas cepas da espécie *S. cerevisiae* (ALMEIDA e SILVA, 2005). Entretanto, na literatura as leveduras são denominadas como *S. cerevisiae* de alta fermentação “topo” e *S. cerevisiae* baixa fermentação “fundo”, para a elaboração de cervejas tipo “ale” e “lager”, respectivamente. As leveduras de fermentação de “fundo” (7 -15 °C), ao fim da fermentação inicial (entre 7 a 10 dias), sofrem floculação e são retiradas no fundo do fermentador. As “topo” agem em temperaturas superiores (16-25 °C) e, no fim da fermentação (entre 3 a 5 dias), flutam na superfície do mosto, formando um sobrenadante, sendo posteriormente coletadas (HOUGH, 1985; ALMEIDA e SILVA, 2005).

Na fermentação de “topo” (cerveja tipo Ale) utiliza-se *Saccharomyces pastorianus* e *cerevisiae* e na fermentação de “fundo” (cerveja tipo Lager) geralmente são utilizadas *Saccharomyces pastorianus* e *carlsbergensis*. As leveduras lager apresentam crescimento somente com temperatura inferior a 34 °C, enquanto as estirpes ale se desenvolvem na temperatura de até 37 °C (CRUZ, 2007).

No processo, o transporte, hidrólise e a fermentação da maltose (média de 50 a 70 % dos açúcares fermentáveis do mosto) e da maltotriose são indispensáveis na elaboração da bebida (WILLAERT, 2007). Sendo que, na fermentação ocorre uma etapa aeróbia seguida por uma etapa anaeróbia (estado fermentativo), ocorrendo nessa segunda etapa a geração de etanol (RUSSELL e STEWART, 1995; CRUZ, 2007).

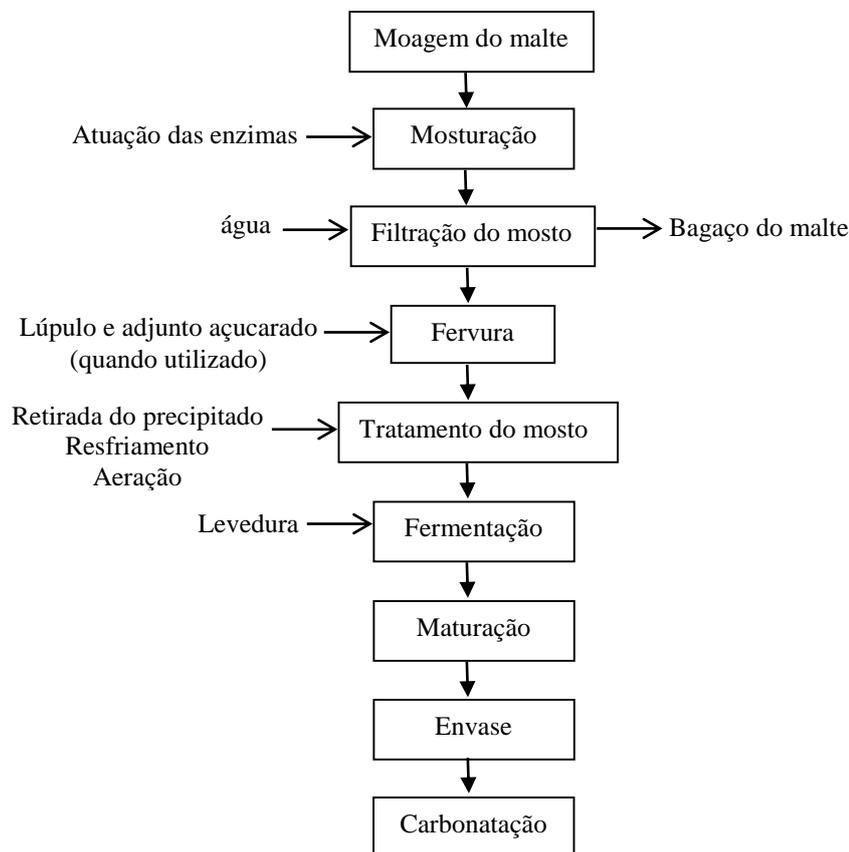
As diversas cepas de *S. cerevisiae* tem influência direta nas características da produção

final, em especial na síntese de compostos aromáticos (álcoois superiores e ésteres) (PRIEST e STEWART, 2006). Em alguns estudos, tem-se relacionado a variação de compostos fenólicos voláteis entre diferentes cervejas e estilos de cervejas com a alteração na atividade da enzima Pad1 observada entre diferentes cepas de levedura tipo ale (VANBENEDEN et al., 2008).

2.5 Processo de produção da cerveja

Há diversas modificações no processamento da cerveja, sendo que essas dependem do estilo de bebida a ser produzida. As etapas do processo realizado são apresentados na Figura 1 e descritos de forma geral a seguir.

Figura 1 – Fluxograma das etapas do processo de produção da cerveja.



Fonte: próprio autor.

Produção do mosto

A moagem do malte, mosturação, clarificação e fervura, são as etapas que compreendem a produção do mosto.

Moagem do malte

A moagem objetiva a trituração do malte, através da exposição do endosperma amiláceo à ação enzimática. Essa etapa interfere diretamente na cinética das reações químicas, clarificação, rendimento e qualidade final do produto. Os grãos de malte devem ser esmagados o suficiente para extração do interior do grão e o tanto quanto possível do endosperma, grande parte será transformado em farinha no processo. Sendo que, as partículas devem ser pequenas o suficiente para possibilitar o acesso da água, que irá hidratar as mesmas, ocasionando na ativação enzimática e na dissolução das substâncias de substratos (predominantemente amidos) que as enzimas agem (BAMFORTH, 2003).

O processo de moagem deve ocorrer preferencialmente sem danificar as cascas de grãos que os envolvem, pois se o esmagamento for muito fraco, ocorre perda de rendimento e, o amido não será suficiente para converter-se em açúcares fermentáveis. Se o esmagamento for muito excessivo, as cascas que agem como uma camada de filtro para o mosto serão destruídas, a permeabilidade será reduzida devido à diminuição da porosidade e o mosto se tornará pegajoso e inutilizável (BAMFORTH, 2003).

O malte é considerado bem moído quando não apresenta grãos intactos e fragmentos de endosperma unidos à casca, as cascas devem ser predominantemente fracionadas longitudinalmente, sendo o endosperma convertido a pedaços menores e com comprimento uniforme e, a farinha fina em mínima quantidade. A farinha fina ocasiona a formação em excesso de compostos mucilaginoso na etapa de mosturação, prejudicando a filtração, por isso, deve ser produzida minimamente (VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001; BOTELHO, 2009).

Sendo assim, a moagem não deverá ser muito grossa para não dificultar a hidrólise do amido e nem muito fina para evitar a filtragem do mosto lenta. A moagem a seco, consistirá no esmagamento entre rolos, em número de dois, quatro ou até seis. E no caso da moagem úmida o processo denomina-se condicionamento, onde há o umedecimento do malte antes da moagem, sendo os moinhos de dois rolos cônicos com ranhuras geralmente utilizados (WILLAERT, 2007).

Mosturação

Mosturação é a etapa que converte os componentes da cerveja em mosto, realizando assim, a extração máxima do mosto para realizar posteriormente a etapa da fermentação

(VENTURINI FILHO, 2000). O processo ocorre de forma controlada, iniciando em baixas temperaturas e sofre o aquecimento por etapas até atingir 75 °C, sendo o objetivo promover a gomificação e posterior hidrólise por parte das enzimas do malte e de seus substratos. Na temperatura de 50 °C, ocorre a ação das proteases; a 60–65 °C, ocorre a conversão do amido pela β -amilase e a 70-75 °C a dextrinização pela α -amilase. Ao fim da mosturação o amido hidrolisado é degradado, se convertendo a açúcares fermentescíveis como maltose, glicose e maltotrioses, além de formar dextrinas. As dextrinas não degradadas, colaboram com o “corpo” e textura da cerveja e, também com aroma e paladar (CEREDA, 1985; OETTERER; 2006; WILLAERT, 2007).

O perfil e composição da cerveja a ser elaborada definem como será o tempo e temperatura durante a ação enzimática e também, o processo de mosturação. Entretanto, na atuação enzimática deve haver o controle da temperatura e do tempo de forma rigorosa (BAMFORFTH, 2003). Por meio do processo de mosturação, é possível obter a extração de até 65 % dos sólidos totais do malte, que em dissolução ou suspensão em água farão parte do mosto, posteriormente (CEREDA, 1985).

Os métodos para mosturação são infusão “brassagem” e decocção ou, utiliza-se a combinação de ambos. A decocção, objetiva elevar a extração de amido. Esse método é mais utilizado para a baixa (profunda) fermentação, baseando-se no aquecimento, a fim de evitar alterações drásticas na temperatura e alto teor de proteína. Neste processo, parte do mosto é separado e sofre a ebulição em breve período de tempo, em seguida é colocado novamente com o mosto principal, aumentando a solução combinada. Já a infusão, é um método tradicional e simples, consistindo no aquecimento da mistura a uma determinada temperatura durante determinado tempo, posteriormente ela sofre elevação novamente, e repete-se até a temperatura final ser atingida (CEREDA, 1985; HUTKINS, 2006).

A análise do European Brewing Convention (EBC) relaciona o “tempo de sacarificação” ao tempo em minutos consumidos depois da mosturação ter atingido a temperatura de 70 °C e ao resultado negativo da amostra no teste de iodo. O teste de iodo é realizado utilizando uma solução de 0,2 N ao final da etapa de mosturação, onde, a inexistência de amido é indicada pela ausência da roxo-azulada (ALMEIDA e SILVA, 2005; WILLAERT, 2007).

Filtração do mosto (clarificação)

Ao fim da mosturação é indispensável separar o mosto (extrato líquido) dos sólidos da mistura, obtendo assim, um mosto límpido e obtenção de extrato. Os resíduos sólidos são

usados como meio filtrante do mosto, sendo composto por cascas de malte, traços de plúmula, aleurona, proteína coagulada e resquícios da parede das células (WILLAERT, 2007; BOTELHO, 2009).

A filtração é realizada em duas partes. Na primeira a fração líquida passa pelos resíduos sólidos que atuam como meio filtrante e é levada ao fervedor, obtendo-se o mosto primário. Na segunda etapa, lava-se com água quente para extrair-se o máximo possível de sólidos solúveis e, posteriormente conduz-se ao mesmo fervedor, denominado mosto secundário ou misto. É necessário que a água utilizada esteja à 75 °C, pois a temperatura mais elevada favorece a “fluidez” do mosto aumentando a eficiência na filtração do resíduo, além disso, as enzimas não estão ativas, não ocorre crescimento bacteriano e, não realizando extração de substâncias não solúveis das matérias-primas. Sendo assim, a ação de lavagem do resíduo contribui diretamente no aumento do rendimento ao fim do processo (AQUARONE, 2001).

Realiza-se a clarificação em diversos equipamentos. No Brasil o mais comum é a tina de filtração, de aço inoxidável, a mesma é formada por um fundo falso, simulando uma peneira. Elas apresentam no seu interior válvulas para entrada e aspersão de água, e um sedeiro giratório que divide a torta, através de um motor elétrico (VENTURINI FILHO, 2001).

Fervura

Ao final da filtração, o mosto é levado ao processo de fervura. A fervura garante a estabilidade do aspecto biológico, bioquímico e coloidal do mosto. Além disso, a fervura também auxilia a extrair aroma e amargor e, na diluição do adjunto açucarado (quando utilizado), esterilizando, concentrando e aprimorando a cor (MORADO, 2011). Venturini Filho e Cereda (2001) cita que a etapa leva média de 2 horas. E, em alguns casos o lúpulo é adicionado ao meio da fervura ou ao final, ou em várias “parcelas” ao decorrer do processo. Pois, os óleos essenciais que conferem o aroma a bebida são extremamente voláteis.

Na fervura ocorre a esterilização do mosto; estabilização da espuma; isomerização do lúpulo, deixando-o mais solúvel e amargo; melhora da estabilidade coloidal por sedimentação tanino-proteína. Além disso, ocorre inativação das enzimas remanescentes e geração e eliminação de um composto químico chamado dimetil sulfeto (DMS). O DMS possui sabor rançoso e, é característico de algumas *light lagers*, porém em outros estilos é visto como um *off flavor* (sabor indesejável) com aroma e sabor de milho cozido. O DMS é eliminado mais facilmente no processo de fervura, por ser um composto volátil. Entretanto como é formado extremamente rápido, ao parar a ebulição ele volta a ser formado, para evitar que isto ocorra,

ao final do processo o mosto deve ser resfriado rapidamente (BAMFORTH e LENTINI, 2009; WILLAERT, 2007; MOSHER, 2009).

Tratamento do Mosto

As características sensoriais e a estabilidade coloidal são certificadas com a retirada de resquícios de lúpulo e do *trub* ao fim da fervura do mosto. Retira-se o *trub* para evitar problemas como: surgimento de películas em volta da parede das células das leveduras e a separação destas ao decorrer da fermentação, que por consequência, ocasiona na redução do grau de fermentação e alteração na coloração, tornando-a escura, o paladar áspero e um baixo equilíbrio na espuma. O *trub* também impacta na eliminação de carbonilas e produção de dióxido de enxofre, pois, atrapalha a ação das leveduras (BAMFORTH e LENINI, 2009; WILLAERT, 2007).

Há diversas metodologias para a remover o *trub* do mosto, dentre eles, sedimentação, centrifugação e métodos de filtração, baseados na separação das partículas por tamanhos distintos ou/e peso. Ao retirar o *trub*, o mosto deve ser resfriado de forma rápida e sob assepsia, parando assim, as reações químicas e, reduzindo a chance contaminação por microrganismos. Ao decorrer do resfriamento, ocorre a precipitação de sólidos (proteínas e alguns lipídios). Este precipitado por ser retirado por flotação, floculação, centrifugação ou filtração. O resfriamento ocorre até atingir a temperatura de inoculação da levedura. A temperatura preferencial para as ale, 15-22 °C e 6-12 °C para lager, entretanto outras temperaturas também são utilizadas (BAMFORTH, 2003; WILLAERT, 2007)

Ao fim do resfriamento, o mosto pode sofrer aeração ou ser oxigenado para fornecer oxigênio a levedura no processo inicial de fermentação. A aeração é interessante no desenvolvimento de substâncias ativas de paladar e para manter a viabilidade das células, entretanto uma aeração excessiva na etapa inicial da fermentação e realizada de forma contínua pode levar a deterioração (BRIGGS et al., 2004; BRÁNYIK et al., 2008).

Fermentação

Nesta fase, coloca-se a levedura no mosto que sofreu aeração e a mesma multiplica-se de forma rápida pelo auxílio do oxigênio adicionado ao meio, realizando a oxidação do piruvato a CO₂ e água. Posteriormente, após o consumo de O₂, há a transformação dos açúcares fermentescíveis em etanol e CO₂ (WILLAERT, 2007).

Na fermentação são produzidos principalmente etanol e CO₂, através da metabolização

dos açúcares fermentáveis encontrados no mosto (glicose, maltose, maltotriose) por ação da levedura. Porém, no decorrer do processo, numerosos subprodutos também são desenvolvidos, como, os álcoois superiores aromáticos e alifáticos, ácidos orgânicos, ésteres, compostos sulfurados e carbonílicos e os álcoois polihídricos, além disso, muitas substâncias do mosto também passam por assimilação pela levedura (GRASSI et al., 2014). As substâncias assimiladas e, formadas a partir de subprodutos e produtos tem influência no aroma, sabor e nas características finais da bebida. Sendo que, a formação desses subprodutos relacionam-se diretamente com as circunstâncias da metodologia empregada, como as concentrações, componentes do mosto, temperatura utilizada e tempo da fermentação (WILLAERT, 2007).

A cerveja pode ser fermentada por processos contínuos ou descontínuos (“batelada”), sendo esse último o mais utilizado (SCHMIDELL, 2001). O pH da bebida está entre 4,3 a 4,6 e, no decorrer da fermentação decresce em pelo menos uma unidade em razão dos ácidos orgânicos sintetizados (WILLAERT, 2007). E, conforme Knudsen (1977), as cervejas de baixa fermentação (8 a 11 °C), o processo de fermentação tem duração de 5 a 7 dias, enquanto as cervejas de fermentação de “topo” (18 a 22 °C), essa etapa varia de 3 a 5 dias (DRAGONE e SILVA, 2010).

Guido et al. (2004) cita que fatores externos, como o teor de lipídios, quantidade de oxigênio no mosto, temperatura, viabilidade das células, claridade do mosto, entre outros, afetam o funcionamento das leveduras na fermentação.

As leveduras tem grande influência na estabilização do sabor, pois, tem a capacidade de reduzir os compostos carbonílicos e sintetizar dióxido de enxofre (GUIDO et al., 2004). Além disso, os fatores físicos, químicos e microbiológicos da levedura podem interferir diretamente na fermentação alcoólica (LIMA et al., 2001). Salienta-se que, a temperatura influencia nos parâmetros do crescimento, viabilidade e metabolismo das leveduras, sendo que, quanto mais elevada a temperatura da fermentação, mais reduzido o tempo para os açúcares serem consumidos, principalmente devido a ação desse fator sob os microrganismos (BRIGGS et al., 2004; MORADO, 2011).

Maturação

Na etapa de maturação, também chamada fermentação secundária, ocorre o aperfeiçoamento de propriedades sensoriais da cerveja que, previamente a exposta à fermentação secundária (maturação) apresenta um sabor não agradável e “imaturo”, sendo nomeado como cerveja verde. A cerveja verde necessita de uma quantidade de extrato

fermentecível e de leveduras viáveis para realizar a segunda fermentação (fermentação secundária) (BRIGGS et al., 2004).

No decorrer da maturação ocorrem várias ações como, a separação das células de levedura; atinge-se a saturação de CO₂ na cerveja; a melhoria das características sensoriais e estabilidade coloidal; retirada dos elementos desinteressantes no aroma; o extrato restante é fermentado; a espuma se estabiliza; a cor e o amargor da bebida podem sofrer correção, por adição de corantes e de produtos do lúpulo, respectivamente. No processo, destaca-se também, a formação de alguns produtos, que contribuem no aroma (ésteres, caproato de etila e etc.) (WILLAERT, 2007).

No decorrer da fermentação secundária é realizada a carbonatação da bebida, o gás carbônico é produzido no recipiente onde ocorre a fermentação, por contrapressão de CO₂ através da levedura. Sendo que, também é possível a realização por métodos mecânicos, onde CO₂ é recuperado no processo produtivo da bebida ou por empresas especializadas (DRAGONE e SILVA, 2010). O processo é realizado em temperatura reduzida, geralmente a 0 °C, pelo período 2 a 4 semanas. Entretanto, para minimizar o tempo, tem-se adotado novas metodologias, como a relacionada ao “repouso de diacetil” consistindo em armazenar a cerveja uma semana entre 12 a 18 °C, posteriormente, acondiciona-la a frio em média de 0°C por outra semana (DRAGONE e SILVA, 2010).

Clarificação (filtração da cerveja)

As principais técnicas de clarificação são: uso de compostos clarificantes, filtração e centrifugação, sendo que, estas podem ser utilizadas de forma individual ou combinada (KUNZE, 1999; MUNROE, 2006).

A cerveja é analisada em três parâmetros: microbiológico, coloidal e a estabilidade no paladar. A estabilização do sabor é atingida a partir da contenção de substâncias que proporcionam sabor e reduzem o oxigênio adicionado na cerveja clarificada. Para garantir a condição microbiológica são removidas as células de levedura. Sendo retiradas as partículas maiores, para evitar a coagulação provocada por compostos fenólicos e proteicos que ocasionam o fenômeno conhecido como *chill haze*, que acontece em cervejas que passaram por esse processo em temperaturas reduzidas. Sendo assim, estes aspectos, conferem a estabilidade e são assegurados pela clarificação da bebida (WILLAERT, 2007).

2.6 Radicais livres e antioxidante

O radical livre é uma espécie química reativa, que apresenta elétrons desemparelhados. Devido à tendência a perder e adquirir elétrons é considerado altamente reativo. Nas células, sob condições normais aeróbicas, há um equilíbrio no processo produtivo das espécies reativas de oxigênio (ERO) e das defesas antioxidantes. A produção excessiva de ERO resulta em um processo nocivo às macromoléculas das células (lipídios de membrana, proteínas, DNA e etc). O desequilíbrio na produção de ERO e antioxidantes leva a um desequilíbrio redox celular, ocasionando danos as células pelos radicais livres, conhecido como estresse oxidativo. O desequilíbrio tem ligação com o envelhecimento, disfunção celular e diversas patologias (DAVIES, 1994; FRÉMONT, 2000).

Diante disso, Atoui et al. (2005) cita que, os antioxidantes agem de forma a inibir, retardar ou diminuir o dano oxidativo, protegendo as células, repondo ou conservando a homeostase redox. Além disso, também podem estabilizar ou inativar os radicais livres para que não ataquem os componentes celulares.

Pietta (2000) e Halliwell (2002), definem os antioxidantes como compostos, naturais ou sintéticos, que possuem alta estabilidade oxidativa e que apresentam propriedades para prevenção de reações de degradação oxidativa, diminuindo a velocidade de oxidação de um determinado substrato oxidável. Halliwell (2002) também cita que, os antioxidantes podem ser considerados “bloqueadores da peroxidação de lipídios e por consequência da degradação de alimentos”.

Simic e Javanovic (1994), categorizam os antioxidantes como primários e secundários. Sendo os antioxidantes primários responsáveis por inativar os radicais livres, esses doam hidrogênio ou elétrons, convertendo os radicais em compostos estáveis. Os compostos fenólicos, carotenoides e aminoácidos apresentam-se como antioxidantes primários. Segundo Atoui et al. (2005), os antioxidantes secundários são responsáveis por privar a reação em cadeia, por meio de mecanismos de complexação de íons metálicos e do bloqueio da degradação de peróxidos e hidroperóxidos. Nesses, são englobados os antioxidantes sintéticos, como os tocoferóis e o ácido ascórbico.

Os compostos antioxidantes podem ser naturais (encontrados na dieta) ou sintéticos. Sendo que, apesar do sistema antioxidante endógeno ter uma capacidade considerada ótima para suprir a homeostase redox, faz-se necessário para o organismo outras fontes de antioxidantes, que, normalmente são adquiridas pela dieta (PIETTA, 2000).

Temple (2000), cita que, estudos relacionados à ação antioxidante de alimentos e

bebidas tem atraído interesse de pesquisadores e também crescido consideravelmente, pois, os antioxidantes vem apresentado propriedades para prevenção e tratamento de diversas doenças, sendo cada vez mais indicados para o controlar os danos oxidativos de células.

2.7 Compostos fenólicos

O termo composto fenólico abrange uma vasta gama de substâncias vegetais que possuem em comum um anel aromático que comporta um ou mais substituintes hidroxilo. Normalmente se encontram unidos a outros compostos, como glicosídeos e ésteres, entretanto, também são achados em sua forma livre (HARBORNE, 1984).

Nas plantas, os compostos fenólicos contribuem na eliminação de patógenos, sendo formados em situações de estresse (infecções, fermentos, radiações UV) e são essenciais a reprodução e ao crescimento das plantas (ARRIBAS et al., 2012). Estes compostos tem despertado grande interesse, por apresentarem propriedades benéficas, dentre elas atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (GUSMAN, MALONNE e ATASSI, 2001).

Além de propriedades farmacológicas, os compostos fenólicos possuem influência direta nas propriedades sensoriais da cerveja (aroma, cor e sabor), na estabilidade oxidativa e na microbiota da bebida (JANDERA, 2009). Sendo que, ao sofrerem oxidação, esses compostos podem se polimerizar e se houver presença de polipeptídeos, ocorre a produção de compostos insolúveis que aumentam a turbidez na cerveja (BAMFORTH, 2000).

Conforme Keukeleire (2000) os compostos fenólicos da cerveja encontram-se principalmente na casca de cevada maltada, cerca de 70 a 80 % e no lúpulo entre 20 e 30 %. Os compostos fenólicos podem ser classificados em flavonoides e não-flavonoides. Conforme Heim, Tagliaferro e Bobilya (2002) e García, Grande e Gándara (2004) destacam-se nos compostos fenólicos flavonoides: os flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas e no segundo grupo ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos.

A cerveja, por apresentar na composição malte de cevada e lúpulo, é uma fonte interessante de compostos fenólicos e logo, tem-se aumentado o interesse pela pesquisa de suas características nutritivas e nutracêuticas, principalmente devido ao potencial antioxidante responsável por auxiliar a prevenir diversos tipos de doenças. Estudos mostram que, os compostos fenólicos apresentados no vinho, bem como os da cerveja, são responsáveis por diminuir a possibilidade de doenças cardiovasculares e, também de determinados tipos de

câncer, reduzindo os danos ocasionados por doses elevadas de etanol (FRAGELL, 1999; TEMPLE, 2000; BAMFORTH, 2002).

Os compostos fenólicos são definidos como ótimos doadores de elétrons, atuando especialmente como antioxidantes no sequestro do ERO e de espécies reativas de nitrogênio (ERN). Ao consumir compostos com características antioxidantes há uma melhora na ação antioxidante e anticoagulante do plasma, além de contribuir na redução da lipoperoxidação de membranas e na oxidação de proteínas (HUSAIN, CILLARD e CILLARD, 1987; GORELIK et al., 2008).

Freitas (2006) cita que os compostos fenólicos são imprescindíveis na dieta e, esses compostos relacionam-se diretamente com a ação antioxidante de bebidas como a cerveja, apresentando também diversas propriedades farmacológicas. Portanto, por ser uma bebida amplamente consumida, torna-se relevante pesquisas que analisem os efeitos benéficos do consumo de forma moderada.

3 OBJETIVO GERAL

Produção, caracterização físico-química e avaliação do teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante de diferentes amostras de cervejas tipo IPA.

3.1 Objetivos Específicos

- Elaboração de uma cerveja tipo IPA.
- Caracterização físico-química das cervejas tipo IPA.
- Determinação do teor de compostos fenólicos totais utilizando o teste de *Folin-Ciocalteu*.
- Avaliação da capacidade antioxidante das amostras de cerveja tipo IPA pelo teste de captura do radical livre DPPH.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local da realização dos experimentos

A fabricação da cerveja ale (IPA) e as análises iniciais foram realizadas no Laboratório de Química Tecnológica pertencente ao Instituto de Química da Universidade Federal de

Uberlândia em Patos de Minas - MG, em junho de 2018. As análises físico-químicas e bioquímicas foram realizadas entre agosto e outubro de 2018, no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular e no Laboratório de Análise e Química de Alimentos, que fazem parte do Instituto de Biotecnologia e da Faculdade de Engenharia Química, respectivamente, ambos da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Patos de Minas.

4.2 Produção da cerveja

Material

Água

A água utilizada no experimento foi adquirida no mercado local da cidade de Patos de Minas–MG, em galões de 20 litros, apresentando-se com as características físico-químicas adequadas para a elaboração da bebida.

Lúpulo

Utilizou-se três tipos de lúpulo na forma de *pellets*: sendo Centennial (8,9 % α -ácidos) e Amarillo (8,2 % α -ácidos) de aroma e amargor e Chinook (12,5 % α -ácidos) somente de amargor. Todos adquiridos em uma empresa de insumos com sede em Uberlândia – MG.

Malte de cevada

Os maltes tipo ale foram obtidos em uma empresa de Uberlândia – MG, que fornece insumos para produção de cervejas artesanais.

Microrganismo

A levedura liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* tipo ale comercial, *Safale S-05* de origem Belga foi obtida na mesma empresa de Uberlândia - MG.

Processamento da cerveja artesanal IPA

Os maltes (Tabela 1) utilizados na produção da cerveja sofreram trituração em um moinho (manualmente), verificando-se a integridade das cascas e ao tamanho dos fragmentos do endosperma. Sendo que, para a produção de aproximadamente 40 L de cerveja, pelo método de brassagem tradicional, utilizou-se uma relação de 3 L de água por kg de malte.

Tabela 1 – Tipos de Malte utilizados na produção da cerveja.

Descrição	Tipo de Malte	País de Origem	Quantidade
Malte Viking Pale Ale	Entre 4 e 7 EBC	Polônia	10kg
Malte Chateau Cara Ruby	Entre 43 e 57 EBC	Bélgica	400g
Malte Chateau Special B	Entre 250 e 350 EBC	Bélgica	200g
Malte Munich	-	-	600g

A bebida foi produzida de forma artesanal em escala laboratorial, com auxílio de dois reatores, sendo um para fervura e outro para a mosturação (brassagem). Inicialmente, foram adicionadas 28 L de água mineral em um recipiente. Posteriormente, foram adicionados os maltes moídos (11,2 kg) apresentados na tabela 1 e a mistura levada para aquecimento sob leve agitação sob constante monitoramento da temperatura, por meio de um termômetro.

Na brassagem, foram estabelecidas rampas de temperatura de 64-68 °C por 60 minutos, sendo realizado o teste de sacarificação do amido para verificar a hidrólise completa do mesmo (uma gota de solução de iodo 0,2 N em uma amostra da mistura, a ausência da coloração roxo-azulada indica a hidrólise completa). Após esse procedimento realizou-se outra rampa de temperatura de 75-80 °C para a desnaturação enzimática.

Ao final da mosturação, para extrair o açúcar remanescente nos sólidos da mistura, foram adicionados 32 L de água aquecida previamente a 80 °C. Em seguida, abriu-se a válvula do recipiente com fundo falso, permitindo somente a passagem do líquido. Nesta etapa, as partes sólidas (cascas do malte e outros) presentes foram usados como filtro para a passagem somente do mosto filtrado. Nesta etapa foi também realizada a recirculação para assegurar a retirada dos resíduos.

O mosto filtrado foi submetido à temperatura de 100 °C durante 60 minutos, ocorrendo também a adição de lúpulo (175 g) na forma de *pellets* (Tabela 2). Adicionou-se, aos 10 minutos de ebulição, 20 g de lúpulo Centennial e 25 g de lúpulo Amarillo; aos 30 minutos, 20 g de lúpulo Chinook e 25 g de lúpulo Amarillo e aos 50 minutos 30 g de lúpulo Centennial, 30 g de lúpulo

Chinook e 25 g de lúpulo Amarillo.

Tabela 2 – Tipos de Lúpulo utilizados na produção da cerveja.

Nome	% Alfa-ácidos	Tipo	Quantidade
Centennial	8,9 %	aroma e amargor	75 g
Amarillo	8,2 %	aroma e amargor	50 g
Chinook	12,5 %	amargor	50 g

Após a fervura, a temperatura do mosto foi reduzida até em torno de 25-30 °C através de um sistema de circulação de água com o auxílio da serpentina conectada a rede de água para troca de calor. Concluído o processo de resfriamento, para fase de fermentação primária acondicionou-se o mosto em baldes brancos tipo alimentar com capacidade de 20 L. E, para a inoculação, utilizou-se 23 g da levedura liofilizada.

Assim iniciou-se o processo de fermentação que se manteve por 19 dias a 12 °C. A manutenção desta temperatura foi possível pela adaptação de um sistema de termostato no refrigerador.

Após esse período, as cervejas foram levadas para a maturação por 10 dias na temperatura de 0-5 °C. Posteriormente essas foram envazadas manualmente em garrafas de 600 mL com adição de um sashe de sacarose de 5 g (priming) e lacradas através de uma máquina de recrave para coroa. Nesse processo essas cervejas ficaram um período de 10 dias no escuro para realizar a carbonatação. Posteriormente, voltaram à geladeira com temperatura controlada de 12 ± 1 °C. As garrafas utilizadas sofreram lavagem e assepsia com solução de 5 % de ácido peracético previamente ao envase.

4.2.1 Análises iniciais na cerveja de produção própria

Densidade Inicial e Densidade Final

O mosto da cerveja de produção própria antes de ser transferido aos baldes de fermentação, teve uma alíquota retirada, enchendo uma proveta com 50 mL, e inseriu-se um densímetro até o seu equilíbrio para efetuar a leitura da densidade relativa inicial. Após o processo de fermentação, realizou-se novamente o processo para avaliar a densidade relativa final da cerveja.

Amargor

O amargor foi calculado utilizando o IBU (International Bitterness Unit – escala do amargor) a partir da seguinte fórmula:

$$\text{IBU} = [(\text{Utilização de AA} * \text{Qtdd de lúpulo (g)} * \% \text{AA} * 1000)] / \text{Volume final do most}$$

Onde:

Utilização AA = corresponde ao fator entre a gravidade específica do mosto pelo tempo de fervura.

%AA = quantidade de Alfa Ácido do lúpulo

Qtdd de Lúpulo = quantidade em gramas de lúpulo utilizado.

Volume Final Mosto = o volume em litros do mosto estimado para se levar ao fermentador.

4.3 Análises da cerveja de produção própria e das comerciais

4.3.1 Obtenção das amostras comerciais

As duas amostras de cervejas artesanais ale (IPA) foram adquiridas em um comércio especializado em cervejas artesanais, em Patos de Minas, MG, sendo ambas fabricadas em diferentes microcervejarias brasileiras.

Para a realização desta pesquisa, as cervejas foram denominadas como cerveja de produção própria e cerveja 2 e cerveja 3, para as amostras comerciais respectivamente.

Na Tabela 3 é apresentada a composição das 2 cervejas comerciais selecionadas, classificadas quanto ao tipo de fermentação, IBU (International Bitterness Unit – escala do amargor), grau alcoólico e componentes base, segundo informações contidas nos rótulos.

Tabela 3 – Composição das cervejas comerciais.

Amostra	Tipo de fermentação	IBU	Grau alcoólico (% vol)	Componentes base
Cerveja 2	Ale	63,2	6,3	Água, Malte de cevada, lúpulo e levedura
Cerveja 3	Ale	50 a 60	5,9	Água, Malte de cevada, lúpulo e levedura

4.3.2 Preparo das amostras

Em todos os testes químicos, as três amostras foram desgaseificadas por banho ultrassônico (*Sanders medical*) por 30 minutos e filtradas na bomba a vácuo (*Prismatec*) em

um filtro de 125 mm. Após esses procedimentos essas amostras foram armazenadas em frascos de plástico e acondicionadas na geladeira.



Figura 2 – Desgaseificação das amostras de cerveja em banho ultrassônico (Autor próprio).

4.4 Análises Físico-químicas

As três amostras de cervejas foram avaliadas nos seguintes parâmetros: pH, densidade relativa, extrato seco total, teor alcoólico e acidez total.

4.4.1 pH

Princípio

A medida de pH baseia-se na determinação da atividade dos íons hidrogênio através da medida potenciométrica utilizando um eletrodo de vidro e um de referência ou um eletrodo de vidro combinado.

Materiais e equipamentos

pHmetro

Béquer de 100 mL

Reagentes e soluções

Solução tampão de pH 4,0

Solução tampão de pH 7,0

Procedimento

A análise do pH foi realizada em medidor de pH (potenciômetro), de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008). Para o uso do potenciômetro, previamente fez-se a calibragem com as soluções tampão pH 7 e 4. Adicionou-se 30 mL da cerveja em béquer, contendo uma barra magnética (peixinho) e colocou-se o sistema sobre um agitador magnético. Emergiu-se o eletrodo nas amostras de cerveja até fixar o valor do pH no visor digital e, realizou-se a lavagem com água destilada e a leitura subsequente das demais amostras.

4.4.2 Densidade por picnometria

Princípio

Baseia-se na relação existente entre o peso específico da amostra a temperatura em que é realizado o experimento em relação ao peso específico da água na mesma temperatura utilizando o picnômetro.

Materiais

Picnômetro

Balança analítica

Termômetro

Picnômetro

Béquer

Procedimento

Pesou-se numa balança analítica o picnômetro vazio. Após esse procedimento pesou-se novamente ele completamente preenchido com água destilada para o cálculo do seu volume. Mediu-se a temperatura da água destilada com um termômetro. Para a análise das cervejas encheu-se o picnômetro com a primeira amostra evitando a formação de bolhas de ar e repetiu-se esse processo para as demais amostras, anotando os respectivos valores. As densidades

relativas foram determinadas recorrendo à fórmula:

$$d = \frac{m(\text{pic.} + \text{cerveja}) - m(\text{pic. vazio})}{m(\text{pic.} + \text{água}) - m(\text{pic. vazio})} d(\text{água à temperatura do experimento})$$

4.4.3 Extrato Seco Total

Princípio

Este método baseia-se na pesagem do resíduo seco de um volume de amostra submetido à evaporação. Este determina o teor de sólidos totais existentes em uma amostra de cerveja.

Material e equipamentos

Balança analítica

Banho-maria

Estufa

Cadinho

Dessecador

Pipeta volumétrica de 5 mL

Procedimento

Levou-se os cadinhos a estufa (100 +/- 5) °C por 1 hora, posteriormente os cadinhos foram colocados no dessecador e depois foram pesados na balança analítica. Após a pesagem e identificação, foram pipetados 20 mL de amostra em cada cadinho e levados ao banho-maria até a secagem. Após a secagem levou-se à estufa (100 +/- 5) °C por 1 hora, esperou-se resfriar e pesou-se novamente. O extrato seco total foi calculado recorrendo a seguinte fórmula:

$$\% \text{ EST} = \frac{100 \times P}{V}$$

Onde:

% EST = Extrato seco porcentagem.

P= massa do resíduo, em g.

V= volume da amostra, em mL.

Para a avaliação do extrato seco das amostras, o experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado (DIC) para 3 tipos de cerveja (3 repetições). O programa estatístico utilizado foi o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados - Sisvar (FERREIRA, 2011), sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade. Os resultados foram plotados em gráficos de barras com os valores de porcentagem de extrato seco presente na amostras de cervejas. O software empregado foi o GraphPad Prism versão 5.01.



Figura 3 – Extrato seco total das amostras de cerveja.

4.4.4 Concentração de etanol – Método espectrofotométrico do Dicromato de Potássio

Princípio

O teste do dicromato de potássio consiste na oxidação do etanol na presença de ácido sulfúrico (meio fortemente ácido), produzindo uma mudança de coloração na solução para a cor verde, permitindo o monitoramento pelo método espectrofotométrico.

Materiais e equipamentos

Tubos de ensaio

Pipetas volumétricas de 2 mL

Pipetas volumétricas de 5 mL

Água destilada

Banho de água previamente aquecido e 60 °C

Espectrofotômetro ($\lambda = 600 \text{ nm}$)

Reagentes

Dicromato de Potássio

Álcool etílico

Ácido sulfúrico

Procedimento

A partir de cada amostra de cerveja degaseificada e filtrada, pipetou-se 25 mL e acrescentou-se 50 mL de água destilada em um balão de destilação, totalizando 75 mL de volume a ser destilado. O balão de destilação foi acoplado no sistema de destilação com a temperatura média de 92 °C, a destilação foi finalizada ao totalizar aproximadamente 25 mL, recolhido em um erlenmeyer e anotou-se o volume final. Com uma pipeta volumétrica separou-se um volume de 1 mL de cada destilado e diluiu-se cada um em balões de 25 mL, obtendo uma solução denominada A. Todas as soluções foram realizadas em triplicata. A partir dessas soluções A, retirou-se 5 mL com uma pipeta volumétrica e transferiu-se para tubos de ensaio juntamente a 2 mL de dicromato de potássio (solução oxidante previamente preparada) e 2 mL de água destilada. O branco foi preparado utilizando 2 mL de dicromato de potássio e 7 mL de água destilada. As soluções e o branco foram levadas ao banho Maria por 30 minutos a 60°C, esperou-se os tubos resfriarem. E, após o resfriamento, o branco foi lido no espectrofotômetro e posteriormente realizou-se a leitura de cada solução no comprimento de onda de 600 nm, ambientado a cubeta com as amostras. Todas as soluções das amostras sofreram análise em triplicata.

Com a finalidade de obter uma curva padrão, soluções padrão de 2, 4, 6, 8 e 10 °GL (% v/v), também foram previamente preparadas, com diluição de etanol:água destilada. Após o preparo, as soluções padrão foram lidas no espectrofotômetro no comprimento de onda de 600 nm.

4.4.5 Concentração de etanol – Método de Índice de Refração

Princípio

A refratometria é um método físico que o índice de refração de uma solução varia regularmente com a concentração do soluto. Portanto, a composição da solução pode ser estimada através de seu índice de refração por comparação com tabelas de referência, sendo refratômetro Abbe o mais utilizado (CECCHI, 1999).

Materiais e equipamentos

Água destilada

Refratômetro de Abbé

Balão volumétrico de 50 mL

Reagentes

Álcool (98,8 %)

Procedimento

A partir de cada amostra de cerveja degaseificada e filtrada, foram preparadas soluções em balões volumétricos de 50 mL e por fim realizou-se a leitura no Refratômetro de Abbé.

Previamente, foram preparadas soluções padrão de 2, 4, 6, 8 °GL (% v/v), com diluição de etanol:água destilada para produção de uma curva de calibração. Após o preparo, as soluções padrão foram lidas no Refratômetro de Abbé.

4.4.6 Acidez total titulável (ATT)

Princípio

Baseia-se na titulação de neutralização dos ácidos com solução padrão básica, com fenolftaleína como indicador para soluções claras de bebidas alcoólicas fermentadas ou com pHmetro para soluções escuras.

Materiais e equipamentos

Balança analítica

Pipeta volumétrica de 10 mL

Bureta de 25 mL

Erlenmeyer de 250 mL

Reagentes e soluções

Solução de hidróxido de sódio 0,1 N

Solução de fenolftaleína a 1 % (m/v)

Procedimento

Realizou-se a análise da acidez total titulável por método titulométrico, utilizando uma solução padronizada de NaOH 0,1 N conforme Instituto Adolfo Lutz (2008) com pequenas modificações. Transferiu-se 5 mL da amostra para erlenmeyer 250 mL contendo 100 mL de água destilada e adicionou-se 2 gotas de fenolftaleína. Depois, titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L até atingir a coloração rosa.

O cálculo da acidez total foi calculado com base na Equação:

$$At = \frac{1000 \times f \times v \times N}{V}$$

Onde:

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio.

v = Volume de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação, em mL.

N = Normalidade da solução de hidróxido de sódio.

V = Volume de amostras, em mL.

4.5 Análises bioquímicas

4.5.1 Capacidade antioxidante

Princípio

O método do sequestro dos radicais livres DPPH é o mais utilizado para determinação da atividade antioxidante, que consiste na redução de um agente oxidante de coloração roxa (DPPH) em virtude da atividade antioxidante da amostra produzindo uma coloração amarela.

Material e equipamentos

Béqueres

Tubos de ensaio

Água destilada

Pipetas volumétricas de 2 mL

Pipetas volumétricas de 5 mL

Espectrofotômetro ($\lambda = 517 \text{ nm}$)

Reagentes

Etanol (98,8 %)

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

Procedimento

A avaliação da atividade antioxidante por meio do método do sequestro dos radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi realizada de acordo com a metodologia de Lopes-Lutz et al. (2008), seguida de pequenas modificações. Preparou-se uma solução etanólica de DPPH na concentração de $40 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para a avaliação, 0,9 mL da solução de DPPH adicionou-se em tubos de ensaio, seguidos da adição de 0,1 mL de cada concentração da cerveja (1000; 250; 125; $62,5 \text{ mg mL}^{-1}$) e 1,0 mL de água destilada. Em paralelo, o controle negativo foi preparado contendo todos os reagentes, exceto a amostra. As amostras permaneceram 60 minutos no escuro e, posteriormente realizou-se as leituras utilizando o espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm. A atividade antioxidante (AA%) foi calculada usando a seguinte equação:

$$\text{AA\%} = [(A_{\text{CN}} - A_{\text{Amo}}) / A_{\text{CN}}] * 100$$

Em que:

A_{Amo} = Absorbância do DPPH com a amostra.

A_{CN} = Absorbância do DPPH com o etanol.

Para a avaliação dos dados dos testes antioxidantes os experimentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (3 x 4), sendo 3 (3 amostras de cerveja) e 4 concentrações (1000; 250; 125; $62,5 \text{ mg mL}^{-1}$), com 3 repetições. O

programa estatístico utilizado foi o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados - Sisvar (FERREIRA, 2011), sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade. Os resultados foram plotados em gráficos de barras com os valores de porcentagem antioxidante em relação às concentrações analisadas (DPPH). O software empregado foi o GraphPad Prism versão 5.01.



Figura 4 - Avaliação da atividade antioxidante empregando o método do DPPH• (Autor próprio).

4.5.2 Teor dos compostos fenólicos totais

Princípio

O Folin-Ciocalteu é uma solução de íons complexos poliméricos formados a partir de heteropoliácidos fosfomolibdicos e fosfotungsticos. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo os ácidos a um complexo azul e essa coloração permite determinar a concentração (NEVES, ALENCAR E CARPES, 2009).

Material e equipamentos

Béqueres

Tubos de ensaio

Água destilada

Pipetas volumétricas de 2 mL

Pipetas volumétricas de 5 mL

Espectrofotômetro ($\lambda = 517 \text{ nm}$)

Reagentes

Folin-Ciocalteu

Ácido gálico

Procedimento

O teor de compostos fenólicos foi determinado por meio do reagente Folin-Ciocalteu de acordo com o procedimento descrito por Singleton e Rossi (1965). Reagiu-se 0,1 mL da concentração da amostra (1000; 250; 125; 62,5 mg mL⁻¹) com 0,5 mL de 0,2 mol L⁻¹ do reagente Folin-Ciocalteu. Posteriormente 0,4mL de solução saturada de carbonato de sódio (75 g L⁻¹) foi adicionado à mistura reacional. As leituras de absorbância foram realizadas a 760 nm após incubação à temperatura ambiente no escuro durante 1 h. O ácido gálico (16,125; 31,25; 62,5; 125; 250 e 500 µg mL⁻¹) foi utilizado como padrão de referência e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por litro de cerveja. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Para a avaliação da quantidade de compostos fenólicos equivalente ao ácido gálico, o experimento foi disposto em delineamento inteiramente casualizado (DIC) para 3 tipos de cerveja (3 repetições). O programa estatístico utilizado foi o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados - Sisvar (FERREIRA, 2011), sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5 % de probabilidade. Para a avaliação da quantidade de compostos fenólicos equivalente ao ácido gálico os resultados foram plotados em gráficos de barras e os resultados forma expressos em miligramas de ácido gálico (mg GAE) por litro de cerveja. O software empregado foi o GraphPad Prism versão 5.01.



Figura 5- Quantificação de fenólicos totais pelo método de *Folin-Ciocalteu* (Autor próprio).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Araújo et al. (2003) cita que a cerveja é um produto que apresenta leve acidez, sendo que a faixa de pH da cerveja tipo ale pode variar entre 3 e 6. Porém, Compton (1978) e Dragone et al. (2008) mencionam que a faixa de normalidade do pH para cervejas lager está entre 3,8 e 4,7. Já Botelho (2009), que analisou as características físico-químicas em cervejas encontrou o pH médio entre 4,12 e 4,46. Nas amostras de cerveja avaliadas, o pH variou entre 3,75 e 4,40, mostrados na Tabela 3. Sendo assim, todas as amostras se apresentaram ácidas. Essas divergências no pH do produto final são decorrentes do estilo da bebida, água utilizada, pH do mosto, tipo de lúpulo e de levedura utilizados no processo produtivo da bebida (REINOLD, 1997; VENTURINI FILHO, 2010; OETTERER et al., 2006).

Os ácidos orgânicos também são produzidos na fermentação alcoólica sendo responsáveis pela queda do pH, ou seja, pelo aumento da acidez. Estes ácidos orgânicos, elevam a acidez da cerveja para que esta apresente aroma e sabor agradáveis ao consumo (HARDWICK, 1995). Porém, a acidez total nas cervejas também pode ser um indicativo de contaminação por microrganismos patogênicos na bebida, entretanto não é um teste específico para este tipo de análise. A acidez alta ($\text{pH} < 4,0$) é responsável por isentar o crescimento de microrganismos patogênicos, assim como posteriores contaminações (DRAGONE et al., 2008). Os ácidos em sua maioria já se encontram na cerveja, contudo, a quantidade relaciona-se com a matéria-prima utilizada, como variedade de malte e condições do processo de maltagem (VENTURINI FILHO, 2000).

Não foram encontrados na literatura valores padrão para acidez máxima e pH permitidos na cerveja. Mas, de acordo com Araújo et al. (2003), todas as amostras apresentaram normalidade em relação a faixa de pH para cervejas tipo ale, sendo a cerveja de produção própria a que apresentou o pH mais ácido 3,75 e, por consequência, o valor mais elevado de acidez total (38,34 meq/L) (Tabela 4). Os valores tem provável relação com composição da matéria-prima utilizada na elaboração da bebida e com a metodologia de elaboração da mesma. Em decorrência da elevada acidez e do pH mais ácido, pode ser considerada a menos propícia ao crescimento de microrganismos patogênicos.

Em relação a densidade relativa, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2009) estabelece o valor de 1,007 a 1,022, e a cerveja de produção própria e a cerveja 3 apresentaram valores dentro do permitido pela legislação, entretanto a cerveja 2 apresentou valor inferior ao valor considerado mínimo.

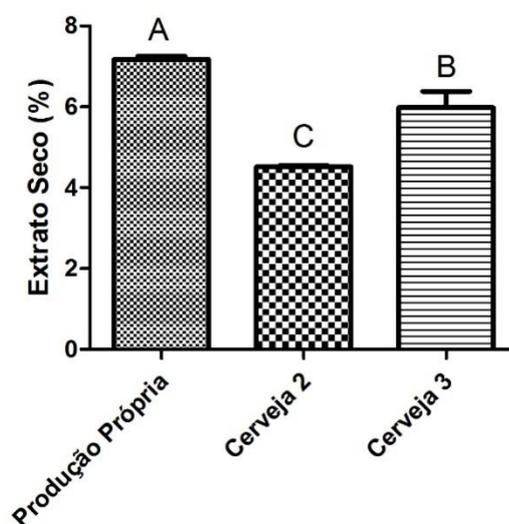
Tabela 4 – Valores de pH, acidez e densidade das amostras de cerveja analisadas.

	pH	Acidez (meq/L)	Densidade Relativa
Cerveja de Produção Própria	3,75	38,34	1,016
Cerveja 2	4,40	27,39	1,005
Cerveja 3	4,25	25,19	1,010

Os parâmetros físico-químicos como extrato seco (Gráfico 1) teor alcoólico (Tabela 5) tiveram os resultados obtidos comparados aos valores padrões estabelecidos pelo MAPA no decreto nº 6.871/2009 e do guia do BJCP.

O extrato seco é um indicador de qualidade em cervejas, correspondendo ao peso do resíduo obtido através da evaporação de todos os compostos voláteis, representando a soma das substâncias não volatilizadas em determinadas condições físicas. Sendo composto por: sais orgânicos e minerais, ácidos fixos, compostos fenólicos, açúcares e polissacarídeos (NAVARRE, 1991). O MAPA (Brasil, 2009), indica que os valores de extratos secos de cerveja devem estar entre 2,0 % e 7,0 %. Sendo que, as cervejas de boa qualidade devem apresentar valor superior a 3 %.

Gráfico 1 – Porcentagem de extrato seco (Cerveja de Produção Própria, Cerveja 2 e Cerveja 3). Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para comparar a concentração entre as amostras, não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.



As amostras analisadas apresentaram média de 7 %, 4,5 % e 6 % de extrato seco total para as cervejas de produção própria, cerveja 2 e cerveja 3, respectivamente (Gráfico 1).

Almeida e Belo (2017), ao analisarem cervejas de diferentes estilos obtiveram na sua maioria resultados superiores a 3 % e abaixo de 6 %. Já Goiana et al. (2016), obteve valores de extrato seco acima de 7 % em todas as amostras de cerveja Pale Ale, atribuindo esses altos valores ao fato das cervejas serem todas artesanais, podendo ser filtradas ou não. Altos valores de extrato seco podem também ser relacionados a quantidade de malte adicionados na composição, que varia entre os processos produtivos dos cervejeiros (ALMEIDA e BELO, 2017).

O teor alcoólico observado por meio dos dois métodos de avaliação do teor alcoólico variaram entre 4,6 e 6,8 (% v/v) (Tabela 4). De acordo com o BJCP (2015), as cervejas tipo ale devem apresentar ABV (alcohol by volume) entre 5,5 e 7,5 % de teor alcoólico, se enquadrando assim no estilo American IPA. Observou-se nos resultados apresentados na tabela 5 que a cerveja 3 não se enquadrou no estilo IPA, por apresentar porcentagem inferior ao valor estabelecido pelo BJCP. Entretanto, o MAPA estabelece que as cervejas devem apresentar entre 2,0 e 4,5 °GL (Brasil, 2009), sendo assim, nenhuma das cervejas se apresentou dentro do valor estabelecido. Mas, deve-se ressaltar que os valores apresentados pelo MAPA se encontram desatualizados, pois não levam em consideração as cervejas artesanais, que devido à matéria-prima e método de elaboração, podem apresentar valores superiores de teor alcoólico.

Ao avaliar os valores de teor alcoólico (%v/v) apresentados nos rótulos das cervejas comerciais, observou-se uma divergência entre os valores obtidos nas amostras reais analisadas no teste do Índice de Refração em relação aos rótulos, 6,3 e 5,9 (%v/v), para as amostras de cerveja 2 e cerveja 3, respectivamente. Mas, ao considerar os resultados obtidos no teste espectrofotométrico do Dicromato de Potássio, somente a cerveja 3 apresentou divergência em relação ao rótulo. A diferença dos valores obtidos em ambos os testes (Teste espectrofotométrico do Dicromato de Potássio e Índice de Refração) da cerveja 3 em relação ao valor do rótulo, indica uma possível falha no processo produtivo ou no controle de qualidade das cervejas. A cerveja de produção própria foi a única que apresentou valores similares em ambos os testes.

Tabela 5– Teor alcoólico avaliado pelo teste espectrofotométrico do Dicromato de Potássio e através do Índice de Refração.

Método	Teor Alcoólico %v/v	
	Dicromato de potássio	IR
Cerveja de Produção Própria	6,7	6,8
Cerveja 2	6,3	5,7
Cerveja 3	4,9	4,6

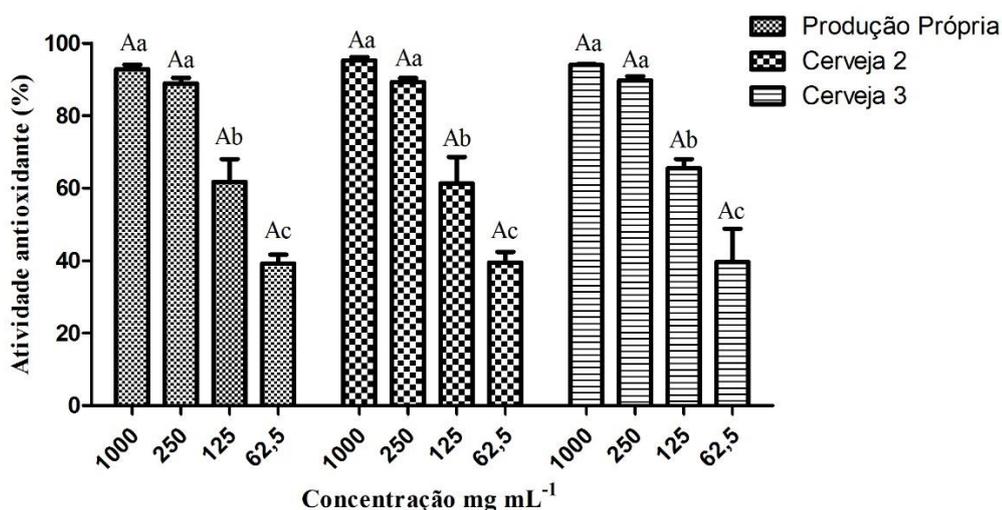
Legenda: IR-Índice de Refração.

Goiana (2016) ao realizar análises físico-químicas em cervejas artesanais Pale Ale comercializadas, obteve valores de teor alcoólico de 5,3 a 6,2 (%v/v). Porém, Almeida e Belo (2017) ao realizarem análises físico-químicas em diferentes cervejas artesanais e industriais comercializadas em Sete Alagoas – MG, obtiveram valores de teor alcoólico entre 4,2 e 5,4 (%v/v), sendo que os resultados, corroborando com o trabalho, também apresentaram divergências entre as amostras analisadas e os valores apresentados nos rótulos das bebidas.

As cervejas devem seguir os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Contudo, os padrões encontram-se defasados e a BJCP tem apresentado novas formas de avaliar e classificar as cervejas, facilitando a compreensão dos tipos e subtipos. O guia de tipos de cervejas dispõe informações com intuito de certificar a qualidade e padronização na elaboração dos estilos da bebida (ALMEIDA e BELO, 2017).

Em relação a atividade antioxidante pelo método DPPH, houve uma pequena variação entre as três amostras, não havendo diferença significativa entre si, ao nível de 5 %. Todas as amostras mostraram-se dose-dependentes até a concentração de 250 mg mL⁻¹, ou seja, ao aumentar a concentração, aumentou-se a atividade antioxidante nas amostras (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Porcentagem da atividade antioxidante das amostras (Cerveja de Produção Própria, Cerveja 2 e Cerveja 3) pelo método do DPPH•, nas concentrações (62,5;125;250 e 1000 mg mL⁻¹). Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para comparar a concentração entre as amostras e minúsculas para comparar a concentração dentro de cada amostra, não diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.



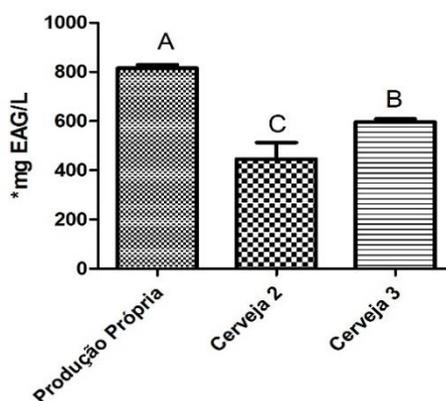
Verificou-se no (Gráfico 3), para a quantificação do teor de compostos fenólicos totais que os valores das amostras variaram de 400 a 800 mg EAG L⁻¹, sendo a amostra de maior valor a de produção própria, e a de menor valor a cerveja 2. Os valores obtidos foram superiores aos

encontrados por Neto, Spinosa e Bonassi (2017), que avaliaram os compostos fenólicos totais em cervejas artesanais estilo red ale com adição de especiarias, variando entre 272 e 305 mg EAG/L. Granato, et. al. (2011), que avaliou o teor de compostos fenólicos totais de amostras de cerveja lager e brown ale encontrou valores entre 119,96 a 525,93 mg EAG/L. Já, Piazzon, Forte e Nardini (2010), ao caracterizar o teor de fenólicos em diferentes tipos de cerveja, obtiveram valores entre 336 a 875 mg EAG/L, sendo estes os mais próximos aos obtidos neste trabalho.

Goupy et al. (1999) e Granato et al. (2011), citam que a cerveja apresenta uma quantidade apreciável de compostos fenólicos, originários principalmente de cevada (cerca de 70-80 %) e lúpulo (cerca de 30 %), que contribuem no geral para a atividade antioxidante da bebida. Esperava-se então, de acordo com os resultados obtidos, uma relação maior entre quantidade de compostos fenólicos totais com o valor da atividade antioxidante (DPPH), ou seja, esperava-se que a cerveja de produção própria, por ter apresentado maior teor de fenólicos, apresentasse maior atividade antioxidante, entretanto a AA foi igual entre as cervejas estudadas.

O teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante da cerveja também relaciona-se com a quantidade e qualidade de matéria-primas utilizadas e do próprio processo de elaboração do produto. Gorjanovic et al. (2009) inclusive relata que a filtração, clarificação, ebulição, fermentação e maturação são pontos críticos para mudanças no conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante.

Gráfico 3 – Porcentagem do teor compostos fenólicos totais (Cerveja de Produção Própria, Cerveja 2 e Cerveja 3) pelo método do reagente Folin-Ciocalteu• em relação ao ácido gálico mg EAG/L-1. Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas para comparar a concentração entre as amostras e minúsculas para comparar a concentração dentro de cada amostra, não diferem significativamente a 5 % de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.



Uma possível explicação pode estar relacionada com o elevado teor de extrato seco que

a cerveja de produção própria apresentou, pois, provavelmente a matéria-prima utilizada no processo não foi totalmente metabolizada e convertida durante a produção e maturação, levando a um alto teor de extrato seco, interferindo assim no valor dos compostos fenólicos totais. Everette et al. (2010), explica que isso ocorre porque o composto do Folin-Ciocalteu reage com outras moléculas como proteínas, carboidratos, aminoácidos, nucleotídeos, tiol, ácidos graxos insaturados, vitaminas, amins, aldeídos e cetonas. Assim, por estarem sujeitos a estes interferentes, pode ocorrer uma superestimação do conteúdo fenólico, que pode ser um ponto fraco dessa metodologia utilizada (NAVARRE, 1991; DE OLIVEIRA, 2009; EVERETTE et al. 2010).

Sendo assim, a cerveja é uma bebida alcoólica de difícil elaboração. Além de existirem diversos estilos, são inúmeros parâmetros de controle envolvidos em sua produção, iniciando pela escolha das matérias-primas. Portanto, as análises físico-químicas são indispensáveis para a verificação da qualidade do produto final, avaliando sua rotulagem e suas peculiaridades intencionais, possibilitando a identificação de falhas e fraudes.

6 CONCLUSÃO

Com base nas análises realizadas para caracterização físico-química das cervejas, foi possível concluir que a cerveja de produção própria exibiu resultados relevantes em relação as comerciais. A cerveja de produção própria apresentou os valores superiores em relação ao teor de extrato seco, teor alcoólico e acidez, que são diretamente ligados ao processo produtivo e a composição da matéria-prima utilizada em sua elaboração.

As cervejas artesanais comerciais apresentaram valores satisfatórios em relação ao extrato seco, acidez e pH. No entanto, os valores de teor alcoólico obtidos divergiram dos rótulos, podendo indicar uma provável falha no processo de produção ou do controle de qualidade das cervejas.

Foram encontrados valores consideráveis na determinação da atividade antioxidante em todas as cervejas, através método DPPH. Estes valores, estão correlacionados parcialmente ao conteúdo de compostos fenólicos da composição das cervejas. Pois, o método Folin-Ciocalteu utilizado para determinação dos compostos fenólicos provavelmente sofreu interferência dos compostos presentes na cerveja de produção própria, superestimando o valor em relação as demais. Apesar disso, todas as cervejas analisadas podem ser consideradas boas fontes de compostos fenólicos e antioxidantes.

Considerando que produção e comercialização de cervejas artesanais e industriais apresentam-se em crescimento no Brasil, o presente estudo aponta a relevância das características físico-químicas e bioquímicas deste produtos. Pois, através dos resultados obtidos foi possível observar que é necessário uma atualização dos valores padrões estabelecidos pelo MAPA, apresentando novas formas de avaliar e classificar as cervejas, englobando as cervejas artesanais, como disposto no BJCP. Assim, pode-se facilitar a compreensão dos seus tipos e subtipos, além de assegurar a qualidade e padronização na elaboração dos estilos da bebida.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA E SILVA. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, G.W. **Tecnologia de Bebidas: Matéria- Prima, Processamento, BPF / APPCC, Legislação e Mercado**. São Paulo: Edgard Blucher, 2005, 550p.

ALMEIDA, D. S.; BELO, R. F. C. Análises físico-químicas de cervejas artesanais e industriais comercializadas em Sete Lagoas-MG. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n. 5, 2017.

AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Editora Blucher, p. 91-144, 2001.

ARAÚJO, et al. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.23, n.2, p. 121-128, 2003.

ARRIBAS, A. S. et al. The role of electroanalytical techniques in analysis of polyphenols in wine. **Trends in Analytical Chemistry**, 34, 78-96, 2012.

ATOUI, A. K. et al. Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. **Food chemistry**, v. 89, n. 1, p. 27-36, 2005.

BAMFORTH, C. W. Brewing and brewing research: past, present and future. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 9, p. 1371-1378, 2000.

BAMFORTH, C. W. Nutritional aspects of beer - a review. **Nutrition research**, v. 22, n. 1-2, p. 227-237, 2002.

BAMFORTH C.W. **BEER: Tap Into The Art of Science of Brewing**. 2. ed. Oxford: University Press, 2003.

BAMFORTH, C.W.; LENTINI, A. The Flavor Instability of beer. BAMFORTH, C.W (Ed.). **Beer: A Quality Perspective**. San Diego: Academic Press, 2009.

BJCP - BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM. **Style guidelines for beer, mead and cider**. 2015 edition. Disponível em:< https://www.bjcp.org/docs/2015_Guidelines_Beer.pdf> . Acesso em: 23 de outubro de 2018.

BERNSTEIN, L., WILLOX, J.C. Água. Em: BRODERICK, H.M. **El cervecero en La practica**. Lima: Asociación Latinoamericana de Fabricantes de Cerveza. Cap. 4, p.53-82, 1977.

BOULTON, C. QUAIN, D. **Brewing yeast and fermentation**. vol. 1. EUA: Wiley-Blackwell, p. 19-60, 2008.

BOTELHO, B.G. Perfil e teores de aminos biotivas e características físico-químicas em cervejas. 2009. 75f.. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais, BeloHorizonte, 2009.

BRÁNYIK, T., et al. Review of Flavour Formation in Continuous Beer Fermentations, **Journal of the Institute of Brewing**, v. 114, p. 3–13, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Decreto nº 6.871, De 4 De Junho De 2009. **Diário oficial da União**.Brasília, 2009.

BRIGGS. D. E., et al. **Brewing – Science and Practice**, Cambridge: CRC Press, 2004.

CARVALHO, G.B.M., BENTO, C.V., ALMEIDA e SILVA, J.B. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1ª. Parte- As leveduras. **Revista Analytica**, v.25, p.36 - 42, 2006.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, p.212, 1999.

CEREDA, M.P. Cervejas. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Biotechnologia - Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, v. 5, p. , 1985.

CEREDA, M.P.; VENTURINI FILHO, W.A. Cerveja. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial**. v. 4 – **Biotechnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, p. 523, 2005.

COMPTON, J. Beer quality and taste methodology. In: BRODERICK H.M. (Dir). **El cervecero en la practica: a manual for the brewing industry**. 2 ed. Madison: Impressions, 1978.

CRUZ, J.M.M. Cerveja. In: FONSECA, M.M.; TEIXEIRA, J.A. **Reactores Biológicos**. Lisboa / Porto: Lidel, p. 305, 2007.

CURI, R. A. Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte. 2006. 122 f..Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista, Botucatu,2006.

DAVIES, K. J. A. Oxidative stress: The paradox of aerobic life. **Biochemistry Society Symposium**, v.61, p.1-31, 1994.

DE OLIVEIRA et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

DRAGONE, et al. Produção de cerveja: Microrganismos deteriorantes e métodos de detecção. **Brazilian Journal of Food Technology**, 10, p. 240-251, 2008.

DRAGONE, G.; SILVA, J.B.A Cerveja, In: VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010.

EVERETTE, J. D. et al. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 58, p. 8139-8144, 2010.

FAGRELL, B. et al. The effects of light to moderate drinking on cardiovascular diseases. **Journal of Internal Medicine**, v. 246, n. 4, p. 331-340, out. 1999.

FERREIRA, D.F. Sistema para análise de variância para dados balanceados - SISVAR 5.3. Lavras: UFLA, 2011.

FREITAS, G. L. Potencial Antioxidante e Compostos Fenólicos na Cerveja, Chopp, Cevada (*Hordeum vulgare L.*) e no Bagaço de Brassagem. 2006. 87f.. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

FRÉMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life Sciences**. v. 66, n.08, p. 663-673, 2000.

GARCÍA, A. A.; GRANDE, B. C.; GÁNDARA, J. S. Development of a rapid method based on solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the determination of polyphenols in alcohol-free beers. **Journal of Chromatography A**, 1054, 175-180, 2004.

GIOVENZANA, V.; BEGHI, R.; GUIDETTI, R. Rapid Evaluation of Craft Beer Quality During Fermentation Process by vis/NIR spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 142, p. 80-86, 2014.

GOIANA, et al. Análises físico-químicas de cervejas artesanais Pale Ale comercializadas em Fortaleza. In: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2016, Gramado. Anais. Gramado: FAURGS: 2016. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/768.pdf>>. Acesso em 15 de nov. de 2018.

GORELIK, S. et. al. J. A novel function of red wine polyphenols in humans: prevention of absorption of cytotoxic lipid peroxidation products. **Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**., v.22, p. 41-46, 2008.

GORJANOVIĆ, Stanislava Ž et al. Application of a novel antioxidative assay in beer analysis and brewing process monitoring. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 2, p. 744-751, 2009.

GOUPY, P. et al. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 789, p.1625–1634, 1999.

GRANATO, D. et al. Characterization of Brazilian lager and brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 3, p. 563-571, 2011.

GRASSI, S., et al. Beer fermentation: Monitoring of process parameters by FT-NIR and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, v.55, p. 279-286, 2014.

GUIDO, et al. The Impact of the Physiological Condition of the Pitching Yeast on Beer Flavour Stability: An Industrial Approach, **Food Chemistry**, v. 87, p. 187–193, 2004.

GUSMAN, J.; MALONNE, H.; ATASSI, G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 8, p. 1111-1117, 2001.

HALLIWELL, B. Food-derived antioxidants: How to evaluate their importance in food and in vivo. **Handbook of antioxidants**, 2. ed., Marcel Decker, USA: Enrique Cadenas e Lester Packer, p. 1-33, 2002.

HARBORNE, J. B. Phenolic compounds. In: **Phytochemical methods**. Dordrecht: Springer, p. 37-99, 1984.

HARDWICK, W.A. **Handbook of brewing**. New York: Dekker, p. 713, 1995.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, 13, 572-584, 2002.

HILL, A.E. Microbiological Stability of Beer. In: BAMFORTH. C. W, (Ed.). **Beer: A Quality Perspective**. San Diego: Academic Press, 2009.

HORNSEY, I. S. **Brewing**. 2 ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2013.

HOUGH, J.S. **Biotechnology of Malting and Brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, p.159, 1985.

HUTKINS, R.W. **Microbiology and Technology of Fermented Foods**. 1ed. Estados Unidos: IFT Press, Blackwell Publishing, p. 475, 2006.

HUGHES, P. Beer Flavor. In. BAMFORTH, C.W, (Ed.). **Beer: A Quality Perspective**. San Diego: Academic Press, 2009.

HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, v. 26, n. 9, p. 2489-2491, 1987.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. ed. 4, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

JANDERA, P. Methods for HPLC analysis of phenolics compounds and flavonoids in beer. In: Preddy, V. R. (org.) **Beer in Health and Disease Prevention**. : Elsevier, 1003-1014, 2009.

KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry, **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 108-112, 2000.

KNUNDSSEN, F. B. Fermentación: principios y practica. In: BRODERICK, H. M. (Dir.). **El cervecero en la practica: un manual para la industria cervecera**. 2. ed. Lima: Graficas SUR, 1977. cap.10, p. 203-29.

KUNZE, W. **Technology of brewing and malting**: Berlin: VLB, p.796, 1999.

LIMA, et al. In: LIMA, U. A. (Coord.). **Biotechnologia Industrial**: Processos Fermentativos e Enzimáticos. v.3. São Paulo: Eduard Blucher, 2001.

LIMA, N.; MOTA, M. **Biotechnologia: fundamentos e aplicações**. v. 1. Lisboa: Lidel, 2003.

LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of Artemisia essential oils. *Phytochemistry*, v. 69, n. 08, p. 1732-8, 2008.

MARTINS, S. M. **Como Fabricar Cerveja**. 2. ed. São Paulo: Icone, 1991.

MARCUSSO, E. F; MULLER, C. V. Anuário da cerveja no Brasil. **Ministério da Agricultura**, 2017. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV/anuario-da-cerveja-no-brasil-mapa.pdf>>. Acesso em 23 de outubro de 2018.

MOIR, M. Hop aromatic compounds, EBC Monograph XXII, Symposium on Hops, Zoeterwoude, The Netherlands, Getränkefachverlag Hans Carl, Nürnberg, p.165–180, 1994.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. São Paulo: Lafonte Ltda., 2011.

MOSHER, R. *Tasting Beer: an insider's guide to the world's greatest drink*. China: Dai Nippon, 2009.

MUNROE, J.H. Fermentation. In: PRIEST, F.G.; STEAWART, G.G. **Handbook of Brewing**. 2ed. Boca Raton: Taylor & Francis. Cap. 5, p. 139-159, 2006.

NAVARRE, C. **L'Oenologie**. Paris:Lavoisier-Tec & Doc, p. 322, 1991.

NETO, R. C. N.; SPINOSA, W. A.; BENASSI, M. T. Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos Totais Em Cerveja Artesanal Estilo Red Ale Com Adição De Especiarias. **Revista Latino Americana De Cerveja**, v. 89065, p. 34, 2017.

NEVES, L. C.; ALENCAR, S. M.; CARPES, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de Apis

mellifera. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, p. 107-110, 2009.

OETTERER, M., et al. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri, SP: Manole, p. 612, 2006.

PALMER, G.H. Barley and Malt. Ln: PRIEST, F.G.; STEAWART, G.G. **Handbook of Brewing**. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis. Cap. 5, p. 139-159, 2006.

PIAZZON, A. FORTE, M. NARDINI, M. **Characterization of Phenolics Content and Antioxidant Activity of Different Beer Types**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 58, 10677 – 10683, 2010.

PIETTA P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**. 63:1035-42, 2000.

PRIEST, F.G.; STEWART, G.G. **Handbook of Brewing**. New York, Taylor & Francis Group, 829 p., 2006.

REINOLD, M. R. **Manual prático de cervejaria**. São Paulo: Aden Editora, 1997.

ROBERTS, T. R. and WILSON, R.J.H. "Hops." In: **Handbook of Brewing**, edited by Fergus G. P. and G. G. Stewart. Boca Raton, Florida: CRC Press. Cap 7, 2006.

RUSSELL, I; STEWART, GG. **Brewing**. In: Biotechnology. Vol.9: Enzymes, Biomass, Food and Feed (eds G. Reed and T.W. nagodawithana). VCH, Weinheim, Germany, p. 419-462 1995.

SCHMIDELL, W. et al. **Biotecnologia industrial**. São Paulo: E. Blücher, v. 2, p. 254, 2001.

SIMIC, M.G.; JAVANOVIC, S.V. Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: HO, C.T. et ai ed. **Food phytochemicals for cancer prevention**. Washinton. American Chemical Society, n. 546, p.20-33, 1994.

SOUSA, C. M. D. M et. al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v.30, p. 351-355, 2007.

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

TEMPLE, N.J. Antioxidants and disease: More questions than answers. **Nutrition Research**, v.20, n.3, p.449-459, 2000.

TORNIC, H.E. Da Cevada à Bebida. **Revista Alimentos e Tecnologia**, v.1, n.7, p.11-16, 1986.

TSCHOPE, E. C. **Microcervejarias e cervejarias: a história, a arte e a tecnologia**. São Paulo: Editora Aden, 2001.

VANBENEDEN, N. et al. Formation of 4-vinyl and 4-ethyl derivatives from hydroxycinnamic acids: Occurrence of volatile phenolic flavour compounds in beer and distribution of Pad1-activity among brewing yeasts. **Food Chemistry**, v 107, 1, p. 221-230, 2008.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. Bebidas. **Tecnologia, Química y Microbiología**. Acibia: Ed. Zaragoza, p. 487, 1997.

VENTURINI FILHO, W.G. **Tecnologia de cerveja**. Botucatu: Funep, 2000, 83p.

VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. Vol. 1. São Paulo: Blucher, p. 15-50, 2010.

VENTURINI FILHO, W.G; CEREDA, M.P. Cerveja, In: ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial na Produção de Alimentos**. São Paulo: Edgar Blucher, p. 91-144, 2001.

WILLAERT, R. **The Beer Brewing Process: Wort Production and Beer Fermentation**. Handbook of food products manufacturing. Brussel: John Wiley & Sons, Inc., p. 443-506, 2007.