

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ADRIANO DE PINHO MONTEIRO

**PRODUÇÃO DE CERVEJAS ESPECIAIS ADICIONADAS DE EXTRATOS
SOLÚVEIS DE ERVAS NATIVAS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES**

CURITIBA

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ADRIANO DE PINHO MONTEIRO

**PRODUÇÃO DE CERVEJAS ESPECIAIS ADICIONADAS DE EXTRATOS
SOLÚVEIS DE ERVAS NATIVAS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Júlio C. de Carvalho

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol

Co-orientadora: Prof. Dra. Adriane B. Pedroni Medeiros

CURITIBA

2016



RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte e sete dias do mês de Abril de 2016, na Sala de Reuniões, do prédio de Bioprocessos (Cenbapar), do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, Jardim das Américas, foi instalada pelo Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho coordenador do programa de Pós – Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, a banca examinadora para a Centésima Sétima Defesa de Dissertação de Mestrado, Área de Concentração: Biotecnologia Agroalimentar. Estiveram presentes no Ato, o aluno, o coordenador do programa e também orientador da dissertação e demais professores da banca examinadora de defesa.

A Banca Examinadora, atendendo determinação do Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, ficou constituída pelos Professores Doutores, Júlio Cesar de Carvalho (UFPR – orientador da tese), Carlos Ricardo Soccol (UFPR – co-orientador da tese), Adriane Bianchi Pedroni Medeiros (UFPR – co-orientadora da tese), e Valcineide Oliveira de Andrade Tanobe.

Às 09h, a banca iniciou os trabalhos, convidando o candidato **Adriano de Pinho Monteiro**, a fazer a apresentação da dissertação intitulada: “PRODUÇÃO DE CERVEJAS ESPECIAIS ADICIONADAS DE EXTRATOS SOLÚVEIS DE ERVAS NATIVAS COM PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES”. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes.

Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca composta pelos professores doutores, Júlio Cesar de Carvalho, Carlos Ricardo Soccol, Adriane Bianchi Pedroni Medeiros e Valcineide Oliveira de Andrade Tanobe, declarou o candidato APROVADO (de acordo com a determinação dos Artigos 59 a 68 da Resolução 65/09 de 30.10.09).

Curitiba, 27 de Abril de 2016.

Prof. Dr. Júlio Cesar de Carvalho

Prof. Dr. Carlos Ricardo Soccol

Prof. Dra. Adriane Bianchi Pedroni Medeiros

Dra. Valcineide Oliveira de Andrade Tanobe

Resumo

O conhecimento popular brasileiro de botânica lista diversas ervas utilizadas para a produção de chás e também no tratamento de enfermidades, onde muitas delas com uma sabor diferenciado. São exemplos destas ervas o chá mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil); carqueja (*Baccharis trimera*); chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*); macela (*Achyrocline satureioides*); picão-preto (*Bidens pilosa*). Nesse estudo, as ervas foram adicionadas a cerveja do tipo ale em diferentes etapas do processo de produção de modo a obter uma bebida com características sensoriais diferenciadas e elevada atividade antioxidante. Diferentes métodos foram selecionados para mensurar a capacidade antioxidante, como o método de Folin-Ciocalteu, CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) e ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). A erva que apresentou a maior capacidade antioxidante segundo os métodos CUPRAC e ORAC foi o *Echinodorus grandiflorus*, seguido da *Achyrocline satureioides*.

Palavras-chave:

Cerveja, Antioxidante, ORAC, CUPRAC, Folin-ciocalteu, *Ilex paraguariensis*, *Baccharis trimera*, *Echinodorus grandiflorus*, *Bidens pilosa*, *Achyrocline satureioides*

Abstract

The common knowledge of Brazilian botanicals lists a great diversity of herbs utilized as infusion for the treatment of common diseases or for beverages, many of these with distinct sensory characteristics. Herbs as Mate tea (*Ilex paraguariensis* St. Hill), carqueja (*Baccharis trimera*), chapéu-de-couro (*Echinodorus grandiflorus*), macela (*Achyrocline satureioides*) picão-preto (*Bidens pilosa*). In this study, the herbs were added to beer at different stages of the production process in order to develop a beverage with desirable sensory characteristic and high antioxidant capacity. Different methods were selected for the evaluation of the antioxidant capacity, methods as Folin-Ciocalteu, CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) and ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). The herb that presented the most antioxidant capacity according to the CUPRAC and ORAC methods was *Echinodorus grandiflorus*, followed by *Achyrocline satureioides*.

Key-words:

Beer, Antioxidant, ORAC, CUPRAC, Folin-ciocalteu, *Ilex paraguariensis*, *Baccharis trimera*, *Echinodorus grandiflorus*, *Bidens pilosa*, *Achyrocline satureioides*

Sumario

1. Introdução	9
2. Objetivo geral.....	10
2.1. Objetivos específicos	10
3. Revisão bibliográfica.....	10
3.1. Histórico da cerveja	10
3.2. Mercado.....	13
3.3. Seleção das ervas.....	14
3.4. Ingredientes	15
3.4.1. Água.....	15
3.4.2. Malte	16
3.4.2.1. Adjuntos não maltados	18
3.4.3. Lúpulo (<i>Humulus lupulus</i>).....	18
3.4.4. Levedura	20
3.4.4.1. Ale.....	20
3.4.4.2. Lager	20
3.4.4.3. Lambic (<i>Fermentação espontânea</i>)	21
3.4.5. Chá Mate Tostado (<i>Ilex paraguariensis</i> St Hil.)	21
3.4.6. Chapéu-de-couro (<i>Echinodorus macrophyllus</i>).....	22
3.4.7. Carqueja (<i>Baccharis Trimeria</i>).....	22
3.4.8. Macela (<i>Achyrocline satureioides</i>)	23
3.4.9. Picão-preto (<i>Bidens pilosa</i>)	24
3.5. Processo produtivo.....	25
3.5.1. Moagem	25
3.5.2. Brassagem	25
3.5.3. Fervura	26
3.5.4. Fermentação	27
3.5.5. Maturação	27
3.5.6. Gaseificação.....	28
3.5.7. Envase.....	28
3.6. Estilos de cerveja.....	28
3.6.1. Beer Judge Certification Program (BJCP) e estilos propostos	29
3.6.6.1. <i>English Pale Ale</i>	29
3.6.6.2. <i>American Pale Ale</i>	30
3.6.6.3 <i>Herb and Spice Beer</i>	30
3.7. Padrão de Identidade e Qualidade da Cerveja no Brasil (PIQ).....	31

3.8. Métodos para determinação de capacidade antioxidante.....	31
3.8.1. Determinação de fenóis totais por Folin-Ciocalteu	32
3.8.2. Determinação de capacidade antioxidante pelo método CUPRAC (<i>Cupric Reducing Antioxidant Capacity</i>).....	32
3.8.3. Determinação de capacidade antioxidante pelo método ORAC (<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>).....	33
3.9. Patentes	34
4. Materiais e métodos.....	34
4.1. Substratos utilizados para fermentação	34
4.2. Cepa utilizada	35
4.3. Preparação do inóculo.....	36
4.4. Desenvolvimento de método de produção de cervejas em escala de bancada.....	36
4.4.1. Preparação do mosto.....	37
4.4.2. Preparação do chá de lúpulo	37
4.4.3. Fermentação	37
4.4.4. Gaseificação.....	38
4.4.5. Preparo de incubadora/maturadora	39
4.5. Preparação do extrato aquoso das ervas.....	40
4.6. Métodos analíticos.....	40
4.6.1. Determinação da densidade do mosto doce e fermentado através de refratômetro	40
4.6.2. Determinação da densidade do mosto doce e fermentado através de densímetro	40
4.6.3. Determinação da fermentabilidade do mosto por atenuação forçada....	40
4.6.4. Determinação da cor por espectrometria – AOAC Official Method 976.08	41
4.5.5. Determinação das unidades de amargor (IBU) – AOAC Official Method 970.11.....	41
4.5.6. Métodos para determinação de capacidade antioxidante.....	42
4.5.6.1. <i>Determinação de capacidade antioxidante pelo método CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)</i>	42
4.5.6.2. <i>Determinação de capacidade antioxidante pelo método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)</i>	42
4.5.6.3. <i>Determinação de fenóis totais por Folin-Ciocalteu</i>	43
5. Resultados e discussão	44
5.1. Experimentos exploratórios.....	44
5.2. Determinação de fermentabilidade através de fermentação forçada	45
5.3. Determinação de cor da cerveja	46

5.4. Determinação do amargor em IBU.....	47
5.5. Determinação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu.....	48
5.6. Determinação da capacidade antioxidante pelo método CUPRAC	50
5.7. Determinação da capacidade antioxidante pelo método ORAC.....	51
6. Conclusão.....	54
7. Trabalhos futuros	54
8. Bibliografia.....	55
9. Anexos.....	63

1. Introdução

O crescente e novo mercado de cervejas especiais tem impulsionado a criatividade dos cervejeiros modernos, seja com a adição de frutas ou ervas incomuns para o público cervejeiro. O setor de cervejas especiais teve seu começo nos anos 80 no Estados Unidos com o resgate de receitas incomuns que contavam com quantidades pouco usuais de ingredientes e sabores extremos, como é o caso de alguns estilos de cerveja como a India Pale Ale, ou simplesmente IPA, sendo o estilo precursor do movimento de cervejarias de menor escala e sabores novos, sendo ela reconhecida pelo amargor elevado e aroma diferenciado derivado da grande quantidade de lúpulo utilizada em sua formulação. Desde então diversos países como Itália, Austrália, Nova Zelândia, Bélgica, Escócia, Inglaterra e Brasil aderiram ao movimento das cervejas ditas especiais, (Morado, 2009) mesmo em países que já possuem uma escola cervejeira de renome, com estilos clássicos de cerveja como por exemplo a Bélgica e Inglaterra, o aparecimento de novas cervejarias nos últimos 10 anos trouxe a experimentação e com ela mudanças em receitas tradicionais, além do desenvolvimento de novos tipos de cervejas ainda não imaginadas. (Webb & Beaumont, 2012)

Com a expansão do mercado foi possível observar o lançamento de cervejas com adição de ervas e especiarias como hibisco, chá preto, erva-mate, coentro, alecrim, pimenta rosa, pimenta preta, canela e muitas outras. Além de frutas e ervas, outras fontes de açúcares como mandioca, mel, extrato de agave e bordo tem sido usadas. Culturas mistas de leveduras, novas linhagens sendo utilizadas, além de novas técnicas cervejeiras (Palmer, 2006; Daniels, 2000; Jackson, 2009).

No Brasil, diversas infusões de caráter medicinal e/ou apenas organoléptico são utilizadas popularmente, algumas baseadas em plantas conhecidas pela sigla PANCs (Plantas alimentícias não convencionais). Essas plantas podem ser usadas de diversas formas, consumidas como alimento ou utilizadas como infusões, e muitas vezes são tidas como plantas daninhas e ou plantas sem valor devido ao desconhecimento das propriedades organolépticas e fitoterápicas das mesmas. A biodiversidade brasileira, aliada ao conhecimento popular de quais ervas podem ser usadas para infusões, representa uma fonte de inspiração para o desenvolvimento de cervejas especiais. Além de aroma e sabor, algumas dessas ervas podem contribuir com propriedades nutracêuticas para a bebida produzida, como por exemplo uma maior capacidade antioxidante da bebida produzida.

Para a pesquisa foram avaliadas algumas PANCs e fitoterápicos utilizadas em infusões e decocções que possuem algum sabor e amargor diferenciado, sendo algumas delas utilizadas popularmente para produção de bebidas frisanter tipo cerveja, como é o caso da carqueja e do chapéu-de-couro. (Kinupp & Lorenzi, 2014)

Apesar da imaginação dos inúmeros cervejeiros, um acompanhamento científico de maior rigor não é uma realidade no Brasil, de modo que poucos dados são gerados relativos a painéis sensoriais, amargor, cor e muito menos sobre a atividade antioxidante das mesmas.

2. Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo produzir bebidas à base de malte com adição de ervas brasileiras encontradas na região sul e sudeste, no caso, Carqueja (*Baccharis Trimeria*), Chapéu de couro (*Echinodorus Macrophyllus*), Erva-mate tostada (*Ilex paraguariensis Saint. Hilaire*), Macela (*Achyrocline satureioides*) e Picão preto (*Bidens Pilosa*) com uma alta palatabilidade e diferenciado teor antioxidante. Para tal, são avaliadas diferentes condições de adição das ervas e como isso afeta o sabor, aroma, atividade antioxidante, cor e amargor das bebidas produzidas.

2.1. Objetivos específicos

- 1) Avaliar o efeito antioxidante das diferentes ervas adicionadas.
- 2) Avaliar o efeito das ervas no amargor da bebida fermentada.
- 3) Avaliar o efeito das ervas na cor da bebida fermentada.
- 4) Avaliar a diferença de capacidade antioxidante entre diversos estilos de cervejas

3. Revisão bibliográfica

3.1. Histórico da cerveja

Cerveja, uma das bebidas fermentadas mais antiga conhecida pelo homem, onde os primeiros relatos da produção dessa bebida à base de malte vêm da Suméria, na antiga Mesopotâmia, onde grãos de cevada eram armazenados dentro de ânforas sem maiores cuidados e com a ação da chuva e umidade passaram por um processo de maltagem natural seguido de uma fermentação espontânea. Assim se produziu uma das primeiras versões da cerveja, muito diferente das versões atuais, possuindo um sabor mais ácido e levemente doce por não ter a adição de nenhuma erva ou lúpulo como forma de se equilibrar o residual doce com o amargo (Hornsey, 2003; Morado, 2009).

O processo de fermentação e produção era atribuído a uma divindade conhecida como Ninkasi, que através das escritas cuneiformes dos sumérios a deusa immortalizou a receita de produção de cerveja de acordo com a época e costumes. Era muito comum o desenho de ânforas com uma espécie de canudo dentro, já que a cerveja não era filtrada e possuía restos dos grãos utilizados (Hornsey, 2003; Standage, 2005).

Outro povo a ter a cerveja como bebida de importância antes da popularização na Europa foram os egípcios antigos. A cerveja possuía grande valor em sua sociedade, pois alguns trabalhadores recebiam o equivalente a 4L de cerveja por dia de trabalho como forma de pagamento. Sendo este líquido servindo como moeda de troca e visto também como bebida quanto alimento (Morado, 2009; Standage, 2005).

Pode-se afirmar que a cerveja nasceu juntamente com a agricultura, visto que é um produto agrícola, de modo que, aonde se possuía o domínio de técnicas de cultivo de grãos,

existe alguma variante da cerveja, seja com o Kaffir, bebida típica sul africana feita a partir de painço, como o Pachwai feito na Índia com o arroz, ou a Chicha feita pelos Quéchuas da Bolívia com milho e o auxílio de enzimas amilases presentes na saliva. Além de diversos outros tipos de cervejas feitos com cereais ou algum tipo de material rico em amido representam aquilo que a cerveja moderna já foi e dando a inspiração para a nova geração de cervejeiros quanto a possíveis ingredientes (Buhner, 1998; Standage, 2005).

Com a chegada da cerveja à Europa, novas técnicas foram desenvolvidas, além da utilização de novos ingredientes para a sua fabricação. Diversas ervas eram utilizadas para a produção do que era então conhecido como *Gruit*, que tinha como o intuito equilibrar os sabores adocicados da bebida com o amargo e sabores diversos produzidos pelas ervas em infusão. Alguns exemplos de ervas estão na Tabela 1. Entretanto algumas das ervas utilizadas possuíam efeitos psicotrópicos e algumas abortivos. Tendo sido relacionadas a rituais pagãos. Somente a partir do século X surgem os primeiros relatos do uso de lúpulo na produção de cerveja em mosteiros onde cervejas eram produzidas. Devido as propriedades amargas da erva e de não possuírem efeitos psicotrópicos como de algumas das ervas usadas no *Gruit* (Buhner, 1998; Hornsey, 2003; Webb & Beaumont, 2012; Morado, 2009).

Nome popular	Nome científico
Bog-myrtle/ Sweet gale	<i>Myrica gale</i>
Urze	<i>Erica spp.</i>
Aquiléia/ Milefólio	<i>Achillea millefolium</i>
Ledum	<i>Ledum palustre</i>
Losna	<i>Artemisia absinthium</i>
Sálvia	<i>Salvia officinalis</i>
Alcaçuz	<i>Glycyrrhiza glabra</i>
Clary	<i>Salvia sclarea</i>
Broom/ Scot broom	<i>Cytisus scoparius</i>
Mandrágora	<i>Mandragora officinarum</i>
Açafrão	<i>Crocus sativa</i>
Baga de zimbro	<i>Juniperus spp.</i>
Erva-cidreira	<i>Melissa officinalis</i>

Urtiga	<i>Urtiga dioica</i>
Bardana	<i>Arctium lappa</i>
Dente de leão	<i>Taraxacum officinale</i>

Tabela 1 – Exemplo de algumas plantas utilizadas na produção do *Gruit* e cervejas medicinais antigas (Buhner, 1998).

No Brasil inúmeras plantas são utilizadas na forma de infusão e administradas como chá no tratamento de pequenas enfermidades e também como forma de se obter uma bebida de sabor diferenciado e de propriedades funcionais. O conhecimento de ervas sul americanas aliado com a vontade de inovação de cervejeiros impulsionou o uso de diferentes ingredientes em formulações, já que especiarias e temperos presentes na tabela 2 já fazem parte para determinados estilos de cervejas ditas como especiais.

Especiaria	Tipo de cerveja
Gengibre	Winter ale/ Farmhouse Ale/ Pumpkin Ale
Canela	Winter ale/ Farmhouse Ale/ Pumpkin Ale
Coentro	Witbier
Casca de laranja	Witbier
Café	Stout/Porter
Cacau / Chocolate	Stout/ Imperial Stout/ Porter

Tabela 2 - Especiarias comumente encontradas em determinados estilos de cerveja (Jackson, 2009; Morado, 2009; Webb & Beaumont 2012; Morrissey, 2010).

Já existem produtos que aproveitam a biodiversidade brasileira: por exemplo, a cervejaria Amazon Beer de Belém do Pará que inovou ao usar frutos e especiarias típicas da região em diferentes receitas, com o uso de taperebá, pirioca, semente de cupuaçu e bacuri. Inovação que foi seguida por cervejarias internacionais de renome como a Brasserie Fantôme da Bélgica que produz uma cerveja de produção limitada que conta com adições de temperos brasileiros como jambu, cubeba, iquiriba, puxuri cumaru-tonka e amburana. Contudo a adição de ervas brasileiras em cervejas continuou de forma tímida, abrindo espaço para novas receitas.

3.2. Mercado

Em termos absolutos, o Brasil é um dos grandes produtores e consumidores de cerveja no mundo. No entanto, não figura como um dos grandes países bebedores de cerveja: no ranking de consumo *per capita*, o Brasil aparece entre 30º e 35º lugar, ficando atrás de países como Venezuela, Gabão e México. O maior consumidor *per capita* é a República Tcheca, onde chega-se a consumir 160,5 litros *per capita/ano* em 2007, que só perderia para a região da Baviera na Alemanha (caso fosse um país independente), onde o consumo foi de 200 litros *per capita/ano* em 2007 (Morado, 2009).

Cervejas massificadas já possuem um mercado consolidado e com uma proposta completamente diferente quanto ao produto final, já que possuem uma rede de logística e distribuição muito mais sofisticada da que as microcervejarias. Como é demonstrado na tabela 3, onde juntas 10 cervejarias produzem 65,8% da cerveja no mundo.

Microcervejarias e nanocervejarias atendem a uma fatia muito pequena e exigente do mercado quando comparadas aos grandes grupos, muitas vezes por um baixo poder de distribuição que as restringe a uma cidade, região ou país. Entretanto grupos como a AB InBev adquiriram grandes nomes entre as cervejas especiais brasileiras e internacionais, com a compra da Goose Island nos EUA, a Wäls de Minas Gerais e a Colorado de São Paulo (Estadão, 2015; Chicago Tribune, 2016). Além de marcas reconhecidas de países como a Alemanha e Bélgica que fazem parte do portfólio de marcas dessa corporação.

O mercado de cervejas ditas especiais tem apresentado um crescimento exponencial em diversos países da América e Europa, impulsionando a pesquisa de insumos e diferentes cepas de leveduras. O crescimento do número de cervejarias ditas artesanais é uma tendência que se justifica pela oportunidade de um negócio lucrativo em um mercado de constante demanda por novidades. Tal interesse pode ser facilmente constatado no mercado brasileiro com a crescente oferta de produtos importados nas prateleiras.

Ranking	Cervejaria	País	Produção de cerveja em 10 ⁶ .hL	Porcentagem da produção mundial de cerveja
1	AB InBev	Brasil/Bélgica/ EUA	411,5	21,0%
2	SAB Miller	Reino Unido	187,8	9,6%
3	Heineken	Holanda	181,3	9,3%
4	Carlsberg	Dinamarca	122,8	6,3
5	China Res. Show Breweries	China	118,4	6,0%
6	Tsingtao Brewery Group	China	76,2	3,9
7	Molson-Coors	EUA/Canada	59,0	3,0%
8	Yanjing	China	53,1	2,7%

9	Kirin	Japão	46,6	2,4%
10	BGI / Groupe Castel	França	31,7	1,6%
11	Efes Group	Turquia	24,5	1,3%
12	Petropolis	Brasil	21,8	1,1%
13	Asahi	Japão	20,7	1,1%
14	Gold Star	China	19,1	1,0%
15	Polar	Venezuela	17,5	0,9%
16	Diageo (Guinness)	Irlanda	17,5	0,9%
17	San Miguel Corporation	Filipinas	16,7	0,9%
18	Singha Corporation	Tailândia	15,8	0,8%
19	Saigon Beverage Corp.(SABECO)	Vietnã	13,0	0,7%
20	Grupo Mahou – San Miguel	Espanha	12,1	0,6%

Tabela 3 – Parcela de produção de mercado de cervejarias (Barth-Haas Group, 2014)

Nos últimos anos uma tendência chamada *contract brewing* surgiu no mercado brasileiro, impulsionando cervejeiro caseiros a produzirem as suas versões em escala industrial. O *contract brewing* consiste da parceria de uma cervejaria já em funcionamento, mas que por não possuir a demanda necessária possui fermentadores ociosos. De modo que se produz uma cerveja dentro das regulamentações do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sem a necessidade de possuir todas as instalações. As então cervejarias a se utilizarem deste serviço vieram a ser conhecidas como cervejarias ciganas (*gypsy brewers*). Modelo de negócio que facilita a entrada no mercado cervejeiro com menor investimento de capital e justificando o atual crescimento e aparecimento de novas marcas e cervejarias.

3.3. Seleção das ervas

As ervas selecionadas para o estudo tiveram primeiramente como critério de seleção uma boa oferta do mercado do produto, sendo todas elas facilmente encontradas em lojas de produtos naturais e muitas vezes em supermercados.

Foi levado em consideração a baixa ou não toxicidade das ervas utilizadas, sendo ervas popularmente utilizadas no Brasil pelo conhecimento tradicional e empírico das mesmas pelo seu sabor ou no tratamento de pequenas enfermidades. Por último as ervas foram selecionadas por produzirem um certo amargor de sabor agradável em suas infusões aquosas, podendo produzir cervejas diferenciadas com o auxílio de insumos nacionais ainda não utilizados em escalas industriais.

3.4. Ingredientes

A cerveja é fabricada a partir de quatro ingredientes básicos: a água, o malte, o lúpulo e a levedura cervejeira. Cada um dos ingredientes base apresenta variações que podem mudar completamente o sabor e aroma do produto final mesmo sem existir a adição de qualquer outro produto, como uma especiaria ou fruta.

3.4.1. Água

Aproximadamente 80% da composição da cerveja, a água é responsável por características sensoriais derivadas da concentração de minerais na mesma. Não só influenciando no sabor, a água pode afetar diretamente a eficiência do processo de brasagem e de *sparging*, caso possua um perfil de minerais diferenciado e um pH um pouco mais elevado. A água por muito tempo foi considerada um fator de grande importância para a produção de cervejas, já que diferentes cidades possuíam um perfil diferenciado de minerais e que auxiliavam no sabor de determinado estilo de cerveja. Como é o caso da água da cidade de Burton na Inglaterra, a qual possui uma quantidade elevada de sulfatos e calcário. O perfil mineral das águas de cidades que deram origem a estilos renomados de cervejas está presente na tabela 4 e pode-se evidenciar diferenças significativas entre o teor de minerais, justificando a fama da cidade de Burton da Inglaterra (Daniels, 2000; Hornsey 2003; Morado, 2009).

Cidade/Estilo	Ca ⁺²	Mg ⁺²	HCO ₃ ⁻¹	Na ⁺¹	Cl ⁻¹	SO ₄ ⁻²
Pilsen/Pilsner	10	3	3	3	4	4
Dublin/Dry Stout	118	4	319	12	19	54
Dortmund/Export Lager	225	40	180	60	60	120
Vienna/ Vienna Lager	200	60	120	8	12	125
Munich/ Oktoberfest	76	18	152	?	2	10
London/ British Bitter	52	32	104	86	34	32
Edinburgh/Scottish Ale	125	25	225	55	65	140
Burton/ India Pale Ale	352	24	320	54	16	820

Tabela 4 – Perfil da água de diferentes cidades de tradição cervejeira em mg/L (Palmer & Kaminski, 2013).

Atualmente a água pode ser manipulada de modo a se produzir um perfil mineral idêntico a de outra cidade, ou então retirar o excesso de um determinado mineral proveniente da fonte disponível, como é o caso de locais onde a água possui elevados teores de calcário (Palmer & Kaminski, 2013; Bamforth, 2002).

3.4.2. Malte

O malte é basicamente um grão de cereal que é germinado e logo em seguida secado para cessar o processo de germinação. Esse processo produz mudanças significativas no grão. As cervejas na sua maioria são produzidas a partir de grãos de cevada maltada, entretanto, outros cereais podem ser acrescentados a ela, como trigo, sorgo, aveia, arroz e milho (Morado, 2009).

O processo de produção de cerveja necessita de um grão com alta atividade amilásica, já que devemos converter amido em açúcar, característica na qual a cevada se destaca com relação a outros cereais (Mallett, 2014).

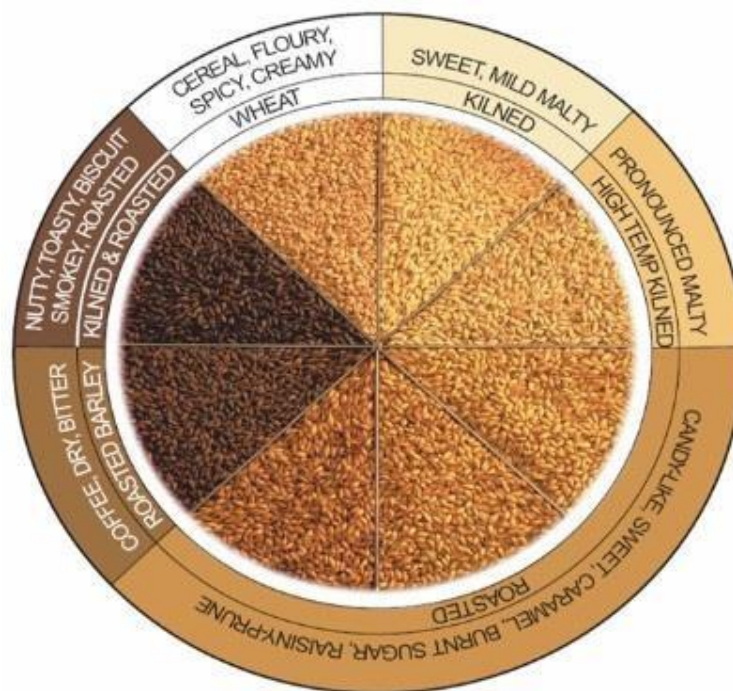


Fig 1 – Tipos de maltes e suas características de sabor (Briess Malt, 2001).

Diversas variedades de cevada existem, sendo as utilizadas as variedades próprias para cervejaria e não as indicadas para panificação e destilarias. Para ser utilizado o grão deve passar pela maltagem que é fundamental para a qualidade e caráter da cerveja. A composição do malte é o que vai influenciar diretamente na cor paladar da bebida e indiretamente na quantidade de álcool, corpo e formação de espuma (Daniels, 2000; Mallett, 2014).

Um bom grão de malte de cevada deve ter um alto teor de amido, teor elevado de enzimas, baixo nível de proteínas, β -glucano e micotoxinas (proveniente de fungos que podem crescer nos grãos, comumente do gênero *Fusarium spp.*) (Bamforth, 2002; Mallett, 2014).

Os maltes podem ser divididos em maltes de base e maltes especiais. Os maltes de base tem como função prover a maior parte dos açúcares e poder enzimático para a etapa de brasagem, enquanto os maltes especiais devido a processos de torrefação serão responsáveis por cor, aroma, corpo e espuma da bebida final (Papazian, 2003; Daniels, 2000; Palmer, 2006; Deeds, 2013).

Germinação

Os grãos de cevada selecionados de acordo principalmente com a taxa de germinação, além de FAN (aminoácidos livres), quantidade de proteínas e amido, tem a adição de água tratada e com temperatura controlada nos grãos de modo a quebrar a dormência dos mesmos e iniciar a germinação. Tal processo inicia a produção de enzimas necessárias para o desenvolvimento da planta (Mallett, 2014).

Secagem

A próxima etapa consiste em diminuir a umidade dos grãos então tidos como verdes de malte até uma umidade onde a estabilidade microbiológica e enzimática se mantenha constante. Com o auxílio de secadores a ar com trocadores de calor a secagem é efetuada. Nos primórdios da maltagem os grãos eram secos com a utilização dos gases de queima de combustíveis fosseis e vegetais, processo que influenciava fortemente no aroma e sabor dos grãos de malte.

O malte utilizado em certas regiões da Escócia para a produção de Whisky ainda se utilizada secagem através do contato direto dos gases de combustão da turfa, conferindo o seu caráter distinto no mundo do Whisky. Para a produção de cerveja, tais métodos foram abandonados devido a alteração de características do produto além da produção de NOx, compostos nitrogenados responsáveis pela poluição atmosférica (Mallett, 2014; Maclean, 2009).

Cura e Torrefação

Uma segunda etapa é utilizada para a produção de distintos maltes. Os ditos maltes especiais, como aqueles que possuem uma cor diferenciada como cor de caramelo e/ou sabores que podem variar da panificação, biscoito, caramelo, café e chocolate.

Para a produção de sabores mais sutis como biscoito, caramelo e panificação a cura é utilizada. A cura consiste em após a secagem do malte, manter o mesmo em temperaturas relativamente elevadas por períodos que podem varias de duas a cinco horas. Permitindo que reações de Maillard e caramelização ocorram nos grãos de malte e colaborando com a formação de sabores e cor (Mallett, 2014).

Quanto aos maltes mais escuros e com notas de café e chocolate por exemplo, o processo de torra é feito. O processo de torra é o mesmo que grãos de café sofrem para adquirir cor e sabor. A temperatura é consideravelmente maior que a utilizada na cura e o tempo de torra menor. Os grãos advindos de processos de torra, praticamente não possuem poder enzimático, sendo

aconselhado limitar a utilização de tais grãos a uma porcentagem de no máximo 5% em peso dos grãos utilizados em determinadas receitas de cerveja (Daniels, 2000; Palmer, 2006).

3.4.2.1. *Adjuntos não maltados*

São substratos que tem como função ajudar a fornecer açúcar para o mosto cervejeiro, os adjuntos não maltados mais utilizados na indústria cervejeira são os grits de milho, arroz e em alguns casos açúcares como açúcar mascavo, cande ou algum tipo de xarope de origem vegetal.

Quando se utiliza um cereal não maltado como milho ou arroz na produção, os mesmos devem ser cozinhados previamente de forma a favorecer a gelatinização do amido presente nos grãos, já que os mesmos não possuem poder diastásico para a conversão em açúcar e devem ser solubilizados para uma melhor ação das enzimas presentes nos grãos maltados (Bamforth, 2002; Daniels, 2000).

3.4.3. **Lúpulo (*Humulus lupulus*)**

Do latim, “o lobo das ervas”, o lúpulo é uma trepadeira da família das *Cannabaceaes*, nativa da Europa, Oeste da Ásia e América do Norte. É uma planta dioica e perene, produzindo novos ramos no começo de cada primavera a partir do rizoma (espécie de raiz) formado que permanece vivo no outono após a planta perder os ramos. É uma planta que, considerando a longa história da cerveja, tem o seu uso recente - o primeiro relato do seu cultivo data de 736 em Hallertau, na Alemanha. Entretanto o primeiro relato do uso em uma formulação vem somente em 1079, já que as versões anteriores contavam com a adição de diferentes ervas de forma a produzir o equilíbrio de doce e amargo na bebida (Hieronymus, 2012; Morado, 2009; Hornsey, 2003; Buhner, 1998).

A parte utilizado do lúpulo são as flores femininas que produzem uma grande variedade de óleos essenciais e resinas. Dentre os compostos compreendidos estão o mirceno, humuleno, mircenol, linalool e taninos.



Fig 2 – Flor fêmea de lúpulo em corte transversal (Garris, 2011).

O lúpulo é na maior parte utilizado na indústria cervejeira, sendo utilizado como forma de amargar o mosto doce, equilibrando o sabor. Além de conferir sabor e aroma para o produto, o

extrato do lúpulo tem propriedades bacteriostáticas e conservantes, por conter antioxidantes. Os principais compostos a se ter em conta no lúpulo são os α -ácidos, que incluem as humulonas, cohumulonas, pos-humulonas e pre-humulonas. Tais compostos são isomerizados durante a fervura pela ação do calor, se tornando iso- α -ácidos que têm como característica o sabor amargo (Stevens & Page, 2004; Hieronymus, 2012).

Diversas variedades de lúpulo existem e outras estão em desenvolvimento, sendo os maiores produtores e pesquisadores os Estados Unidos e Alemanha. Por condições climáticas e melhoramento genético, é possível obter variedades com teores de α -ácidos e perfis aromáticos distintos, devido a diferentes quantidades de óleos essenciais e resinas (Barth-Haas Group, 2014).

As variedades de lúpulos melhoradas em laboratório podem ser divididas primariamente em função do seu uso. Lúpulos com alto teor de alfa ácidos tendem a serem usados com o intuito de amargar a cerveja, enquanto lúpulos com alto teor de óleos essenciais produzem aromas diferenciados. O perfil dos óleos essenciais de lúpulos muda completamente de uma variedade a outra: por exemplo, enquanto temos o lúpulo Citra, com aromas cítricos e frutados e um alto teor de alfa ácidos, o lúpulo Magnum apesar de um perfil parecido como pode se ver na tabela 5, não possui um aroma frutado e muito menos cítrico: possui notas de aroma de pinho e herbal.

Lúpulo	Alfa ácidos	Total de óleos	Função:	País
Magnum	11-16%	1,6-2,6%	Amargor	Alemanha
Amarillo	8-11%	1,5-1,9%	Aroma	EUA
Saaz	3-6%	1-2%	Aroma	Rep. Tcheca
Cascade	4,5-7%	0,7-1,4%	Ambos	EUA
Citra	11-13%	2,2-2,8%	Ambos	EUA
Hallertau Mittelfrüh	3-5,5%	0,7-1,3%	Aroma	Alemanha
Styrian Golding	4,5-6%	0,5-1%	Aroma	Eslovênia
Kent Golding	4-6,5%	0,4-0,8%	Ambos	Reino Unido
Hersbrucker	1,5-4%	0,5-1%	Aroma	Alemanha
Columbus	14-16,5%	2-3%	Amargor	EUA
Galaxy	13,5-15%	2,4-2,7%	Ambos	Austrália

Tabela 5 – Lúpulos importantes e seus perfis (Hieronymus, 2012; Daniels, 2000).

De acordo com o perfil da cerveja a se produzir, determinadas variedades de lúpulos são mais adequadas para o resultado desejado. Aromas e sabores frutados, herbais e florais são algumas das notas possíveis a se distinguir no produto final proveniente do lúpulo (Daniels, 2000).

3.4.4. Levedura

O ingrediente mais importante de uma boa fermentação é a linhagem de levedura usada, sendo crítico na qualidade da cerveja. A levedura mais que um microrganismo com o papel de converter açúcares em álcool: a cerveja deve muito do seu sabor e aroma a compostos secundários formados em seu metabolismo, assim como o dióxido de carbono.

As leveduras cervejeiras podem ser separadas em dois grandes grupos, e um terceiro com grandes particularidades. Entre esses grupos teremos grandes diferenças entre o perfil aromático e de sabor, além de diferenças de faixa ideal de temperatura de trabalho, tolerância a álcool e capacidade de floculação no fim da fermentação (Deeds, 2013; Papazian, 2003; White & Zainasheff, 2010).

3.4.4.1. *Ale*

Leveduras do tipo *Ale* correspondem a um grande grupo que são utilizadas em panificação, produção de destilados e muitas outras cepas utilizadas em laboratórios. São caracterizadas por uma fermentação rápida e por produzirem cervejas com maior complexidade, ou seja, com sabores provenientes de compostos secundários de fermentação. A maioria das leveduras do tipo *Ale* trabalham em temperaturas que abrangem de 15 à 25°C, sendo a faixa ideal em torno de 20°C (Morado, 2009; Palmer, 2006; White & Zainasheff, 2010).

Entre as cepas existentes temos algumas populares, como a americana, conhecida por um perfil limpo de aroma e sabor, as belgas que produzem compostos fenólicos típicos, e as utilizadas em cervejas de trigo, que possuem grande produção de ésteres. Outras diferenças são provenientes de características como o quanto uma cepa flocula e o seu grau de atenuação, e o quanto de açúcar ela é capaz de consumir em função da quantidade de álcool que a mesma suporta no meio.

3.4.4.2. *Lager*

São leveduras caracterizadas por um fermentado de sabor límpido, sem a presença de compostos secundários de sabor e aroma como ésteres, óleos fúseis (álcoois fúseis) e fenóis que conferem uma maior complexidade à bebida. As cepas do tipo *Lager* são conhecidas por trabalharem em uma menor temperatura de fermentação, 8 a 12°C, configurando uma fermentação de maior duração quando comparada a uma levedura do tipo *Ale*. Além de precisarem de um maior tempo de maturação para a eliminação de alguns compostos gerados que são tipos como “*off-flavors*”, sendo o diacetil (2,3-Butanodiona) o problema mais recorrente para este tipo de levedura (White & Zainasheff, 2010; Bamforth, 2002; Fix, 1993).

3.4.4.3. Lambic (Fermentação espontânea)

Cerveja de origem belga onde o mosto doce não é inoculado com leveduras, mas deixado aberto durante o momento de resfriamento após a fervura de modo a permitir o desenvolvimento de leveduras selvagens, geralmente *Brettanomyces*, e bactérias lácticas e *Pediococcus*. O produto da fermentação é uma cerveja de caráter ácido e seco (Jackson, 2009; Morado, 2009).

Versões industrializadas do processo são conhecidas como Sour Ales, pois não tem a inoculação espontânea e sim um inóculo preparado com uma mistura de leveduras do tipo *Saccharomyces*, *Brettanomyces* e bactérias lácticas comumente encontradas em cervejas do tipo Lambic em uma proporção adequada (Morado, 2009; White & Zainasheff, 2010; Webb & Beaumont, 2012).

3.4.5. Chá Mate Tostado (*Ilex paraguariensis* St Hil.)

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hil. Aquifoliaceae) é um espécie nativa da América do sul, principalmente no sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai onde é usada em infusões e decocções. Industrialmente é usada pelo seu potencial de preparação de refrescos, chás e até em cosméticos devido às propriedades nutracêuticas e antioxidantes que estão relacionadas a sua constituição química, onde compostos como saponinas, metil xantinas e compostos fenólicos estão presentes (Blum-Silva, et al., 2015; Santos et al., 2015).



Imagem ilustrativa.

Fig 3 – Exemplo de erva mate tostada (Lifepel, 2015).

A erva pode ser usada na forma verde, onde é apenas secada, ou também na forma tostada. O chá mate tostado é o produto beneficiado constituído somente de folhas ou de folhas e talinhos, triturados em equipamento adequado (Turkmen, et al., 2006).

Diferentemente do chá mate verde, o tostado apresenta uma coloração diferenciada assim como sabor e aroma. O processo de torrefação produz modificações importantes em produtos de

origem vegetal devido a degradação térmica progressiva, como por exemplo reações de Maillard, perda de nutrientes, possível diminuição do teor de polifenólicos. A reação de Maillard é responsável pela produção de alguns compostos antioxidantes, como melanoidinas, que é capaz de sequestrar metais pesados e promover a decomposição de hidro peróxidos (Matsumoto, 2008; Blum-Silva, et al., 2015).

3.4.6. Chapéu-de-couro (*Echinodorus macrophyllus*)

O chapéu-de-couro é uma planta que pertence à família *Alismataceae* e ocorre dos EUA até a Argentina, sendo geralmente encontrada em alagados e em brejos (Bevilaqua, et al., 2001; Kinupp & Lorenzi, 2014). A planta pode ser utilizada como ornamental para chafarizes e pequenos lagos, porém o uso como chá tem maior importância do que o valor ornamental. O uso na forma de extrato aquoso através de decocções e infusões na preparação de chás ou frisanter devido a seu caráter adstringente, o qual também é utilizada como fitoterápico para inflamações, distúrbios renais e como analgésico, principalmente para dores de cabeça (Haraguchi & Carvalho, 2010).



Fig 4 – Exemplo de chapéu-de-couro e refrigerante a base do mesmo (Tua Saúde, 2014) (Mate Couro, 2013)

Estudos demonstram não haver um efeito significativo citotóxico e genotóxico dos extratos hidro-alcoólicos do chapéu-de-couro em ratos (da Silva, et al., 2010). A erva é conhecida por possuir derivados do ácido o-hidroxicinâmico (Anvisa, 2010), além de flavonoides, esteroides, saponinas e polifenóis (Leite, et al., 2007; Kobayashi, et al., 2000; Silva, et al., 2012).

3.4.7. Carqueja (*Baccharis Trimeria*)

A carqueja é uma um arbusto pertencente à família das *Asteraceae*, encontrada em regiões do sul e sudeste do Brasil e também encontrada na Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai (Bona, et al., 2005; Oliveira, et al., 2012). Conhecida como carqueja ou carqueja amargosa, a planta é uma planta dioica, que resulta em uma grande variabilidade genética e em muitas espécies análogas (Bona, et al., 2005). É utilizada principalmente na forma de extrato aquoso, sendo conhecida por propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, atividade anti-esquistossomica, antioxidante, antiúlcera, antiácida e moluscocida (Martins-Ramos, et al., 2010;

Nogueira, et al., 2011; Oliveira, et al., 2012). Sendo, também empregada na produção de cervejas artesanais como substituto do lúpulo (Bona, et al., 2005).



Fig 5 – Carqueja na forma fresca e em formade saches. (Mercado das ervas, 2015) (Lifepel, 2015)

A carqueja possui um baixa genotoxicidade e antigenotoxicidade (Rodrigues, et al., 2009), além de apresentar baixa toxicidade para um consumo moderado. Já foi demonstrado que o consumo de um extrato hidro-alcoólico por um período superior a 20 dias, administrado em ratas mostrou sinais de toxicidade para o fígado e rim. A carqueja apresenta diversos compostos bioativos, como flavonoides (flavonas, flavononas), terpenos (diterpenos, triterpenos), saponinas e outros compostos fenólicos como o ácido caféico (Martins-Ramos, et al., 2010; Anvisa, 2010).

3.4.8. Macela (*Achyrocline satureioides*)

Planta nativado sul da américa do sul pertencente à família das Asteraceae, abrangendo o sul do Brasil, incluindo regiões serranas de São Paulo, Minas Gerais, Uruguai, Paraguai e Argentina (Martins-Ramos, et al., 2010). É usada popularmente na forma de infusão, maceração em água fria, decocção e em xaropes. É utilizada também como ingrediente em algumas bebidas aperitivas. Conhecida como também como macela do campo, macelinha, camomila nacional. A erva é considerada símbolo do Rio Grande do Sul que até possui um nome no dialeto alemão sul brasileiro, *Riograndenser Hunsrückisch*, referida como *Karfreitachstee*, onde “Kar” significa santo, “Freitach” sexta-feira e “Tee” quer dizer chá. O nome deriva da tradição de realizar as colheitas na Sexta-feira santa antes do sol nascer, que acredita-se aportar um maior eficiência do chá das flores. A macela é usada amplamente como erva medicinal, tendo algumas propriedades atribuídas como anti-inflamatório, sedativo, hepatoprotetivo, imunomodulatório, antibacteriano, antitumoral, antiviral e fotoprotetivo (Sabini, et al., 2013; Joray, et al., 2013). Ensaios realizados com extratos aquosos e alcoólicos da planta comprovaram a segurança do consumo da planta ao demonstrar baixa toxicidade, citotoxicidade e genotoxicidade para o uso nas concentrações popularmente utilizadas em aperitivos e infusões (Rivera, et al., 2004; Sabini, et al., 2013).

Muito das propriedades atribuídas à macela se devem ao seu perfil químico diferenciado, onde uma grande concentração de flavonoides e terpenos está presente nas flores, além de apresentar concentrações significativas de α -humuleno, componente de sabor e aroma encontrado também no lúpulo cervejeiro (Retta, et al., 2009; Martins-Ramos, et al., 2010; Hieronymus, 2012).



Fig 6 – Macela na forma de flor e Aperitivo a base da mesma (Georgia, 2015).

3.4.9. Picão-preto (*Bidens pilosa*)

Conhecida por ser uma planta daninha no Brasil, o Picão-preto, Pico-Pico ou simplesmente Picão é uma *Asteraceae* originária da América do Sul e sendo encontrada também na Ásia e em partes da África, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (Cortés-Rojas, et al., 2013; Chien, et al., 2009; Yuan, et al., 2008; Khoza, et al., 2016). Usado principalmente na forma de infusão aquosa, ela também é consumida como vegetal em alguns países africanos (Kinupp & Lorenzi, 2014; Khoza, et al., 2016).



Figura 7 – Exemplo de picão preto (Cultura Mix, 2013).

Conhecida por possuir propriedades antiabéticas (anti-hiperglicêmica), antimicrobiano, anti-inflamatório, antialérgico além de outras propriedades, o picão preto ainda pode ser utilizado como alimento e na preparação de bebidas frisanter análogas a cerveja (Hsu, et al., 2009; Chien et al., 2009; Cortés-Rojas, et al., 2013; Lorenzi, 2010; Kinupp & Lorenzi, 2014).

Estudos comprovam a inocuidade da erva na forma de extrato aquoso, não possuindo nenhum efeito toxicológico em ratos administrados por um período de 28 dias, mesmo quando administrados com uma dose concentrada a fim de se avaliar a toxicidade aguda, sendo assim considerada uma planta de consumo seguro para o uso contínuo. (Cárdenas, et al., 2006). O extrato alcoólico apresenta uma toxicidade um pouco maior quando comparada com o extrato aquoso, mas não o suficiente para se considerada tóxica. (Frida, et al., 2008)

O picão preto deve as suas propriedades fitoterápicas a compostos bioativos como flavonoides, polifenóis e poliacetilenos presentes em suas folhas e talos (Anvisa, 2010; Cortés-Rojas, et al., 2013; Cárdenas, et al., 2006; Khoza, et al., 2016).

3.5. Processo produtivo

A produção da cerveja pode ser resumida basicamente em 3 etapas, a brassagem, a fervura e a fermentação. A primeira é responsável pela transformação dos açúcares em amido, a segunda pela esterilização do mosto e extração do lúpulo, e a última é o processo biológico responsável pela formação do álcool etílico e outros compostos que caracterizam um determinado estilo de cerveja.

3.5.1. Moagem

Os grãos devem ser moídos de forma a expor o conteúdo interior e facilitar a etapa de sacarificação e filtração. A moagem deve ser realizada de forma a somente esmagar os grãos e manter a casca praticamente intacta, pois a mesma deve funcionar como um auxiliar de filtração. Caso a moagem seja muito fina, com granulometria próxima a de um pó, a eficiência do processo de sacarificação pode aumentar, entretanto ocorrem problemas relativos a maior tempo de filtração e ou entupimento do filtro utilizado (Mallett, 2014; Bamforth, 2002).

3.5.2. Brassagem

A brassagem é o termo utilizado para uma infusão com água quente que hidrata os grãos de malte moídos, gelatiniza o amido dos grãos e com as enzimas presentes naturalmente nos grãos maltados converte o amido em açúcares fermentáveis. O malte deve ser moído de modo a facilitar a hidratação e mantido na temperatura de conversão ideal do amido em açúcares (65 a 68°C). A brassagem é tipicamente realizada por uma hora e ao final o mosto é drenado para um outro recipiente, enquanto uma outra quantidade de água de lavagem é adicionada aos grãos que restaram de modo a lavar, dissolver o açúcar residual que ficou nos grãos moídos e filtrados. O mosto resultante da filtração e da filtração com água de lavagem da continuidade ao processo na fervura (Papazian, 2003; Palmer, 2006).

O processo de brassagem envolve muitas enzimas durante a desmembramento do amido e de proteínas presentes nos grãos de cevada maltado em moléculas menores; pelo menos 8 apresentam atividade de interesse para a produção de cerveja, as principais enzimas envolvidas na brassagem estão listadas na tabela 6, juntamente com a faixa ótima de pH e temperatura para a atividade de cada uma.

Enzima	Temperatura de atividade	Temperatura de atividade ótima	pH de atividade	pH de atividade ótima	Função
Fitase	30-52°C	-	5,0-5,5	-	Abaixa o pH da brasagem
B-glucanase	20-50°C	35-45°C	4,5-6,0	4,5-5,5	Ajuda na conversão de adjuntos não maltados
Proteases	20-65°C	45-55°C	4,5-6,0	5,0-5,5	Produção de Aminonitrogênio livre (FAN – <i>Free amino Nitrogen</i>)
α -glucosidase	60-70°C	-	4,5-6,0	5,0-5,5	Separa a maltose e açúcares maiores em glicose (efeito negligente no rendimento total)
Dextranase limite	60-67°C	60-65°C	4,8-5,8	4,8-5,4	Limita a quebra de dextrinas
α -amilase	60-75°C	60-70°C	4,0-6,0	4,5-5,5	Produção de grande variedade de açúcares e dextrinas incluindo maltose
β -amilase	60-65°C	60°C	5,0-6,0	5,2-5,8	Produção de maltose

Tabela 6 – Enzimas presentes no malte (Palmer, 2006).

As duas principais enzimas são a α -amilase e a β -amilase. O equilíbrio entre as duas é responsável pela produção de uma cerveja mais seca, onde a maioria dos açúcares é consumido na fermentação, ou pelo corpo da cerveja, a sensação de peso do líquido na boca sendo atribuída pelos açúcares não fermentáveis no produto final.

As mudanças de temperaturas durante a brassagem são conhecidas como rampa de sacarificação, onde se começa o processo na menor temperatura e pausas em determinadas temperaturas de acordo com os grãos utilizados, corpo desejado e formação de espuma. Para adjuntos não maltados ou pouco modificados, adota-se um regime de temperatura que favoreça a conversão do amido presente nos adjuntos, portanto deve-se começar a uma temperatura de 50°C para um melhor resultado. Já para cereais maltados, devido ao elevado poder enzimático, pode-se efetuar uma brasagem em uma única faixa de temperatura (65-70°C) obtendo resultados satisfatórios (Palmer, 2006; Papazian, 2003; Mallett, 2014).

3.5.3. Fervura

Com o fim da etapa de brassagem e a recuperação através de filtração da fração conhecida como mosto doce, temos a fervura da mesma por no mínimo 60 minutos. A fervura tem várias funções para a produção da cerveja, entre elas, esterilização do mosto, precipitação de proteínas (que caso contrário estariam no produto final e causariam turvação) e diminuição de sabores desagradáveis proveniente dos grãos de cevada. No caso o DMS, dimetil sulfeto, que é produzido durante a fervura a partir de compostos sulfurosos do grão e que é volatilizado durante a mesma se a fervura for realizada corretamente (Palmer, 2006). Problemas relativos ao DMS

ocorrem na maioria das vezes em cervejas do tipo lager devido a seu perfil limpo de sabor, onde qualquer defeito de fabricação se torna facilmente evidente. O DMS tem sabor e aroma a vegetais cozidos como milho e couve quanto dentro do nível de percepção (Bamforth, 2002; Mallett, 2014; Papazian, 2003).

A fervura serve como etapa de adição do lúpulo e algumas especiarias. O lúpulo tem como componentes principais resinas e óleos essenciais. A resina proveniente do lúpulo contém α -ácidos que são isomerizados em iso- α -ácidos durante a fervura, produzindo o amargor na cerveja. O lúpulo pode contribuir no sabor da cerveja através dos óleos essenciais que podem dar características de frutas, flores e/ou ervas no produto final, além do poder bacteriostático que favorece a fermentação de leveduras já que inibe o crescimento de bactérias. (Hieronymus, 2012; Palmer, 2006).

O precipitado produzido durante a fervura (quebra quente) é removido através de filtração ou centrifugação (Papazian, 2003; Palmer, 2006).

3.5.4. Fermentação

O mosto proveniente da etapa de fervura e clarificação é resfriado até a temperatura de fermentação, e aerado antes de ser inoculado. Existem diversas cepas de leveduras cervejeiras que podem ser divididas entre do tipo Ale e Lager, a primeira sendo coletada na parte superior do mosto sendo fermentado enquanto a outra se encontram fundo do fundo do fermentador. Ambos os tipos de cepas precisam de uma certa quantidade de oxigênio para iniciar o seu metabolismo, mesmo que a fermentação alcoólica seja anaeróbica. Leveduras do tipo Ale tem uma fermentação geralmente rápida, completa em alguns dias e com temperaturas na faixa de 20°C, enquanto as do tipo Lager ocorrem a temperaturas tão baixas quanto 6°C, e podem demorar algumas semanas até atingirem o ponto desejado (White & Zainasheff, 2010).

A fermentação chega ao fim quando o teor de álcool desejado é alcançado, e um aroma e sabor indesejável de manteiga, *butterscotch* (devido a um metabólito secundário chamado diacetil) é consumido pela própria levedura (Palmer, 2006; White & Zainasheff, 2010).

A levedura é coletada e armazenada para ser reutilizada para uma próxima fermentação (Bamforth, 2002).

3.5.5. Maturação

O condicionamento a baixa temperatura da cerveja após a fermentação é conhecido como maturação. O condicionamento a frio ou também conhecido como "*lagering*" tem como o objetivo diminuir gostos e aromas indesejáveis "*off-flavors*" através de uma mudança no metabolismo da levedura e decantar proteínas e leveduras em suspensão a fim de diminuir a turbidez do produto (Bamforth, 2002; Demain & Solomon, 1986).

A maturação ideal é realizada a entre 0 a 5°C durante um período mínimo de 14 dias. Sob esse regime, mais proteínas precipitam e decantam no mosto, ajudando a produzir uma cerveja com menor probabilidade de turvação no produto final (Palmer, 2006).

3.5.6. Gaseificação

Consiste do processo de adicionar CO₂ à cerveja, afim de produzir um efeito frisante e um leve abaixamento do pH. A gaseificação ou carbonatação pode ser feita de duas formas: a carbonatação forçada, ou por fermentação secundária em garrafa. A primeira consiste em adicionar a cerveja sem gás em um vaso preparado para suportar pressão e com o auxílio de um manômetro injetar dióxido de carbono até obter-se o volume dissolvido necessário. O segundo método consiste em envasar a cerveja com presença de levedura e uma adição calculada de açúcares fermentescíveis, de modo a realizar uma segunda fermentação e o gás produzido por ela ficar retido, dissolvido na cerveja (Palmer, 2006; Deeds, 2013).

3.5.7. Envase

Etapa na qual o produto finalizado é armazenado em barril, garrafa ou lata através de enchedoras automáticas ou manuais e fechado hermeticamente de modo a não permitir o contato do oxigênio externo com o líquido e manter a pressão de dióxido de carbono presente no líquido. Um envase com fermentação na garrafa ou no barril é possível, sendo necessário esperar o tempo adequado para uma boa fermentação e o volume desejado de CO₂ dissolvido (Bamforth, 2002; Deeds, 2013).

3.6. Estilos de cerveja

As cervejas são classificadas de acordo com estilos onde os critérios básicos que definem um certo padrão cada tipo de receita são a cor, graduação alcoólica, amargor e densidade do mosto no início da fermentação. Particularidades como metabólitos secundários, lúpulos, especiarias e maltes especiais que fornecem sabores e aromas específicos podem fazer parte da descrição de um determinado estilo (Daniels, 2000).

Colour based on Standard Reference Method (SRM)

SRM/Lovibond	Example	Beer color	EBC
2	Pale lager		4
3	German Pilsener		6
4	Pilsner Urquell		8
6			12
8	Weissbier		16
10	Bass pale ale		20
13			26
17	Dark lager		33
20			39
24			47
29	Porter		57
35	Stout		69
40			79
70	Imperial stout		138

Fig 8 – Exemplo da escala de cor em EBC (European Brewery Convention, 2015).

Por exemplo cervejas de trigo do tipo *Weizen* tem a característica de possuir aroma de banana advindo de bioaromas produzidos pela linhagem de levedura. Cervejas como a *India Pale Ale* possuem um amargor elevado quando comparadas a outros estilos tradicionais de cerveja. Como forma de se criar um padrão para os vários estilos existentes, uma convenção foi criada por sommeliers, uma série de atributos que cada estilo deve atender para classificar a enorme variedade de cervejas.

Alguns estilos condizem mais com o perfil de sabor e aroma de ervas, por possuírem um maior amargor quando comparados a alguns outros estilos, ou por aceitarem as notas ervais e sabores amargos dos insumos propostos nessa dissertação. É o caso das cervejas *English Pale Ale*, da *American Pale Ale* e da *Herb and Spice Beer*.

3.6.1. Beer Judge Certification Program (BJCP) e estilos propostos

Como forma de padronizar estilos e julgamento de cervejas foi fundado em 1985 o *Beer Judge Certification Program* ou simplesmente BJCP. Uma associação americana sem fins lucrativos que surgiu da necessidade de padronizar a forma de julgamento de cervejas em concursos. A associação foi fundada por dezenas de especialistas que auxiliaram na produção de um guia de estilos de cerveja, utilizado por cervejeiros e juizes de todo o mundo, além de certificar e habilitar pessoas a serem jurados em concursos em que se envolva cerveja (Morado, 2009).

Características como cor, claridade, retenção de espuma, aroma, sabor, corpo e defeitos (off-flavors) são analisados de forma a se obter uma nota global e se a cerveja julgada representa o estilo desejado.

Concursos são realizados como forma de premiar os melhores exemplos de um determinado estilo de cerveja se utilizando sempre os métodos de avaliação desenvolvidos pelo BJCP. Sendo toda cerveja analisada em função do estilo proposto e se a descrição respeita os parâmetros imposto do estilo e não pela qualidade da mesma. Ou seja, uma cerveja pode ser deliciosa ao paladar de um leigo, mas receber uma nota baixa por não se encaixar na definição do estilo proposto.

Alguns estilos foram classificados como compatíveis com as ervas selecionadas devido ao caráter amargo das mesmas, a definição dos estilos propostos segue abaixo.

3.6.6.1. *English Pale Ale*

De coloração dourada a acobreada, translúcida, pouca formação de espuma e baixa carbonatação definem a aparência desse estilo.

No aroma o lúpulo de variedades do Reino Unido é presente podendo ser moderadamente alto ou baixo sendo acompanhado de um aroma de malte com notas de caramelo e algumas notas frutadas de ésteres provenientes da fermentação.

Amargor presente com suporte dos sabores do malte evidentes, sabor de lúpulo evidente

com notas herbais, florais e terrosas características de lúpulos britânicos.

Corpo de médio para alto e alta “drinkabilidade” (facilidade de beber) produzem uma clássica *English Pale Ale*.

Características:

IBUs: 30-50 **OG:** 1,048-1,060

SRM: 5-14 **FG:** 1,010-1,016

ABV: 4,6%-6,2%

3.6.6.2. *American Pale Ale*

De coloração dourada a âmbar, geralmente translúcida, entretanto, uma leve turvação devido à técnica de *dry-hopping* (adição de lúpulo na etapa de fermentação/maturação) é aceita, boa formação de espuma com boa retenção com carbonatação moderada a alta.

Aroma de lúpulo de variedades americanas presente devido ao *dry-hopping* e adições tardias de lúpulo na fervura. Caráter cítrico dos lúpulos é comum, mas não obrigatório. Há notas de maltes especiais (panificação, tostado, biscoito), e aromas de ésteres frutados em quantidades moderadas a nenhum e sem diacetil presente.

Sabor de lúpulo presente com caráter cítrico comum dos lúpulos americanos, amargor presente e final seco caracterizam essa adaptação da *English Pale Ale* feita com insumos provenientes do novo continente. Notas de caramelo não são desejadas, entretanto notas de maltes especiais que remetem a panificação, tostão e biscoito são aceitas. Assim como no aroma, no sabor quantidades de ésteres em baixas quantidades são aceitas.

Características:

IBUs: 30-45 **OG:** 1,045-1,060

SRM: 5-14 **FG:** 1,010-1,015

ABV: 4,2%-6,2%

3.6.6.3 *Herb and Spice Beer*

Cerveja em que as características de sabor e aroma do adjunto devem ser notados. Alguns adjuntos como gengibre e canela possuem um forte aroma e podem ser diferenciadas mais facilmente que outros, entretanto algumas características podem não ser notadas quando usadas em combinação. O caráter do adjunto deve dar suporte para uma bebida agradável sem parecer artificial e excessivo.

De modo geral o adjunto deve estar em harmonia e equilibrada com o estilo de cerveja produzido. As notas de produtos secundários de fermentação, malte e lúpulo podem estar presentes, mas podem não estar tão presentes quanto o adjunto.

Características:

Densidades, amargor, cor e teor alcoólico irão variar de acordo com o estilo de base.

3.7. Padrão de Identidade e Qualidade da Cerveja no Brasil (PIQ)

As cervejas produzidas no Brasil devem atender a certos requisitos para as mesmas receberem o nome de cerveja. O decreto N°6.871, de 4 de junho de 2009, regulamenta a composição e as atribuições das cervejas produzidas no Brasil. Pontos importantes são uma quantidade mínima de malte de cevada com relação a proporção total de grãos, a proibição da adição de produtos de origem animal como por exemplo leite, a proibição de adição de álcool independente da sua procedência, além de ser proibido substituir totalmente o lúpulo ou seus derivados por outros princípios amargos. Além de regulamentar o uso de edulcorantes e estabilizantes químicos não autorizados expressamente

Toda cerveja que apresentar a adição de algum tipo especiaria, erva e ou fruta deve apresentar seu rótulo “cerveja com ...” o nome do produto em questão. Além disso pode-se dividir a cerveja em duas categorias de produtos comercializadas, a cerveja e o chopp, as quais apresentam as seguintes características:

- Cerveja

Produto estabilizado biologicamente através do processo de pasteurização, produto com maior tempo de prateleira que dispensa refrigeração.

- Chopp

Produto não submetido a processo de pasteurização, conservando qualidades organolépticas e uma melhor qualidade de espuma por não desnaturar proteínas através de tratamento térmico.

3.8. Métodos para determinação de capacidade antioxidante

Nos últimos 10 anos a pesquisa sobre antioxidantes estimulou a procura pela padronização de um método antioxidante, tanto que revisões de diversos métodos foram publicados recentemente (Prior, et al., 2005; Pellegrini, et al., 2003; Tafulo, et al., 2010; Alam, et al., 2013).

O estudo da atividade antioxidante de extratos vegetais, frutas, alimentos e bebidas em geral produziu uma gama de análises de um mesmo parâmetro, a atividade antioxidante, entretanto os complexos mecanismos de reação de cada método muitas vezes não apresentam valor biológico dos compostos antioxidantes, além de certos métodos apresentarem uma maior seletividade para determinados compostos em sua reação, de modo a não contabilizar moléculas de potencial antioxidante devido a não reatividade ou longo tempo de reação (Prior, et al., 2005; Pellegrini, et al, 2003; Molyneux, 2004).

Em métodos de análise de teor de antioxidantes podemos separar as análises de acordo com seus mecanismos de reação, que pode ser pela transferência de um átomo de hidrogênio ou pela transferência de elétrons. Apesar do final da reação ser o mesmo, há diferença na velocidade e mecanismo da reação. Para métodos baseados no hidrogênio, temos a medição da capacidade

de um antioxidante em questão sequestrar radicais livres através da doação de uma molécula de hidrogênio, enquanto para os métodos baseados na transferência de elétron, mede-se a capacidade de um antioxidante ceder elétrons de modo a reduzir algum composto como metais, carbonilas ou radicais livres (Prior, et al., 2005; Alam, et al., 2013; Apak, et al., 2014; Tafulo, et al., 2010).

Para a escolha de um método antioxidante deve-se ter uma reação que apresente relevância biológica, com mecanismo conhecido, de simples aplicação, boa reprodutibilidade, que possa se utilizar dos dois mecanismos de reação antioxidantes e com instrumentação necessária disponível. Nenhum método antioxidante pode ser considerado como capacidade antioxidante total, justamente por não existir um método que cubra todas as possíveis reações e mecanismos de relevância biológica (Prior, et al., 2005; Alam, et al., 2013; Apak, et al., 2014).

3.8.1. Determinação de fenóis totais por Folin-Ciocalteu

A determinação de fenóis totais pode ser considerado um teste antioxidante, já que quantifica moléculas de grande valor antioxidante, no caso, os polifenóis. Além de possuir um mecanismo básico de reação que é uma oxidação/redução, de modo que pode ser considerado outro método de análise antioxidante (Prior, et al., 2005).

É um método desenvolvido em 1927 originado dos ensaios químicos utilizados para uma análise de tirosina, onde os polifenóis são oxidados por uma solução reagente de molibdatode tungstênio resultando em uma mudança de cor, mudando do amarelo para o azul. O método é simples, sensível e preciso, entretanto a reação é lenta em pH ácido (Prior, et al., 2005; Tafulo, et al., 2010).

3.8.2. Determinação de capacidade antioxidante pelo método CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*)

Método recente para a determinação da capacidade antioxidante através da redução de íon metálico, no caso Cu II para Cu I, o mecanismo da reação segue o mesmo princípio de métodos como FRAP (*Ferric-ion Reducing Antioxidant Parameter*) e o método de fosfomolibdênio, onde um íon metálico é reduzido e formando um complexo de coloração diferente da inicial (Prior, et al., 2005; Cekic, et al., 2009).

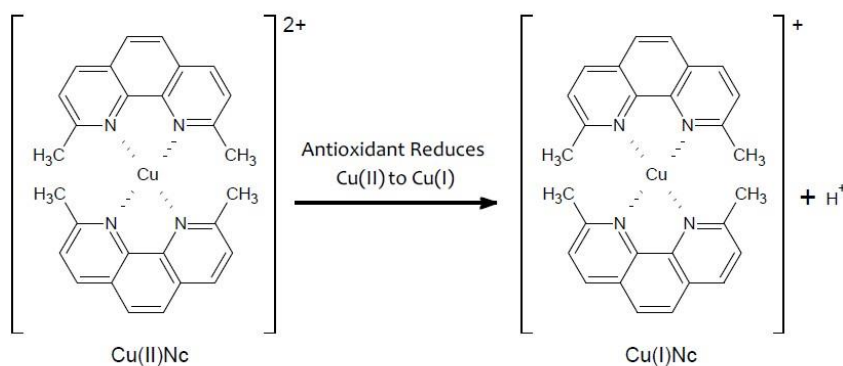


Fig 10 – Reação de redução do complexo neocuproina/cobre (Apak, et al., 2014).

No caso do CUPRAC a análise é menos seletiva que as outras e apresenta menor custo e fácil aplicação que as demais. Pois a FRAP não reage com tióis, diferentemente do método CUPRAC (Cekic, et al., 2009; Prior, et al., 2005; Alam, et al., 2013), além do custo por análise ser menor. O método possui algumas vantagens como o fato de ser simples, os reagentes possuem boa estabilidade e uma boa reprodutibilidade das análises. Além de reagir a um pH 7, condição próxima a fisiológica e não em um pH ácido como na análise FRAP (Apak, et al., 2014).

3.8.3. Determinação de capacidade antioxidante pelo método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Trata-se de uma análise da capacidade antioxidante *In vitro* com certa relevância biológica, onde temos a liberação de espécies reativas de oxigênio, como por exemplo; ROO^* , HO^* , $^{\circ}\text{O}_2$ e ONOO^- as quais degradam um reagente, no caso a fluoresceína. Essa reação entre espécies reativas do oxigênio ocorre a um pH e temperatura próximo do corpo humano, no caso pH 7,4 e 37°C . Justificando sua relevância biológica já que pH, temperatura e os radicais empregados no método estão presentes condizem com os presentes em seres vivos. Além do fato de tais espécies reativas conhecidas por implicarem processos oncogênicos e do processo de envelhecimento celular no corpo humano (Prior, et al., 2005; Tafulo, et al., 2010).

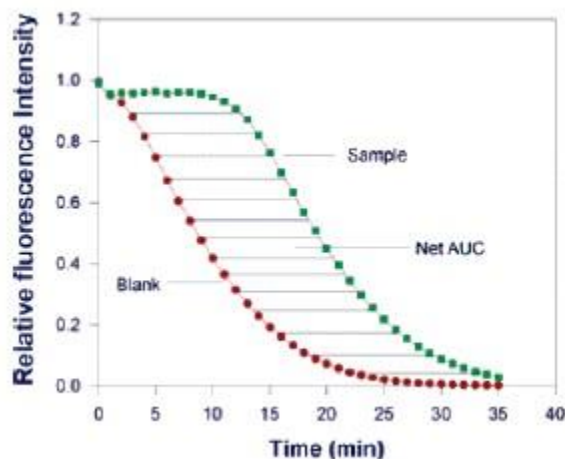


Fig 11 – Exemplo da cinética do método ORAC (Prior, et al., 2005).

O método consiste na leitura da fluorescência emitida em função do tempo quando temos a reação entre fluoresceína, fonte de fluorescência, e o reagente AAPH(2,2'-azobis(2-metilpropionamida) dihidrocloro) com a função de gerar os radicais da reação (Prior, et al., 2005).

A intensidade da fluorescência é acompanhada gerando um gráfico da cinética da reação de uma amostra ou composto antioxidante padrão. A área do gráfico produzido pela amostra deve ser comparada com a área de um branco, uma solução tampão de fosfato, de forma a se obter a área da região formada entre a curva da amostra. Quanto maior a proteção da intensidade da fluorescência, maior será a área do gráfico formado, logo maior será a capacidade antioxidante da amostra.

3.9. Patentes

Como forma de proteger as formulações propostas foram produzidas algumas patentes que relacionam as diversas formas de se adicionar o sabor e aroma das diferentes ervas propostas, seja com a adição em apenas uma etapa ou em diversas etapas durante a produção da cerveja. Além de relacionar diferentes linhagens de leveduras e aditivos cervejeiros das diversas fontes, como xarope de agave, rapadura e candy sugar.

O campo da invenção dos depósitos realizados está em anexo ao final do documento, podendo dar uma melhor noção das patentes depositadas relativas a produção de cervejas com ervas.

4. Materiais e métodos

4.1. Substratos utilizados para fermentação

Para a produção do mosto de base em etapas preliminares foram utilizados os maltes Pilsen, Munich II e Melanoidina. Entretanto o uso de extrato de malte foi escolhido posteriormente na produção das formulações e no preparo de inóculos.

Os grãos de malte também foram utilizados para ensaios preliminares de produção de cerveja, os quais devem passar por uma etapa de sacarificação. Essa etapa é dispensável para a preparação do mosto quando utilizado o extrato de malte, de modo que as formulações foram produzidas somente com extrato de malte, como forma de padronizar a produção sem contar com variações inerentes dos grãos de malte quanto a quantidade de proteína, enzimas e açúcares, além da variação da eficiência do processo de sacarificação. A tabela 7 exemplifica as formulações propostas no estudo com seus substratos utilizados.

Substrato:	Lúpulo	Adjunto	Ponto de adição
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de erva- mate torrada	Pré fermentação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de carqueja	Pré fermentação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de chapéu-de- couro	Pré fermentação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de macela	Pré fermentação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de picão- preto	Pré fermentação

Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de erva-mate torrada	Após maturação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de carqueja	Após maturação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de chapéu-de-couro	Após maturação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de macela	Após maturação
Extrato de malte	Chá de lúpulo Hallertau Magnum	Extrato aquoso de picão-preto	Após maturação

Tabela 7 – Formulações de cervejas

O lúpulo utilizado é o Hallertau Magnum®, que tem como característica um amargor limpo e pouco aroma, sendo utilizado em diversos estilos de cerveja devido à sua versatilidade. A tabela 7 mostra as formulações produzidas e seus distintos pontos de adição de ervas na cerveja, enquanto na figura 12 demonstra-se com maior clareza a diferença entre as etapas escolhidas para a adição.

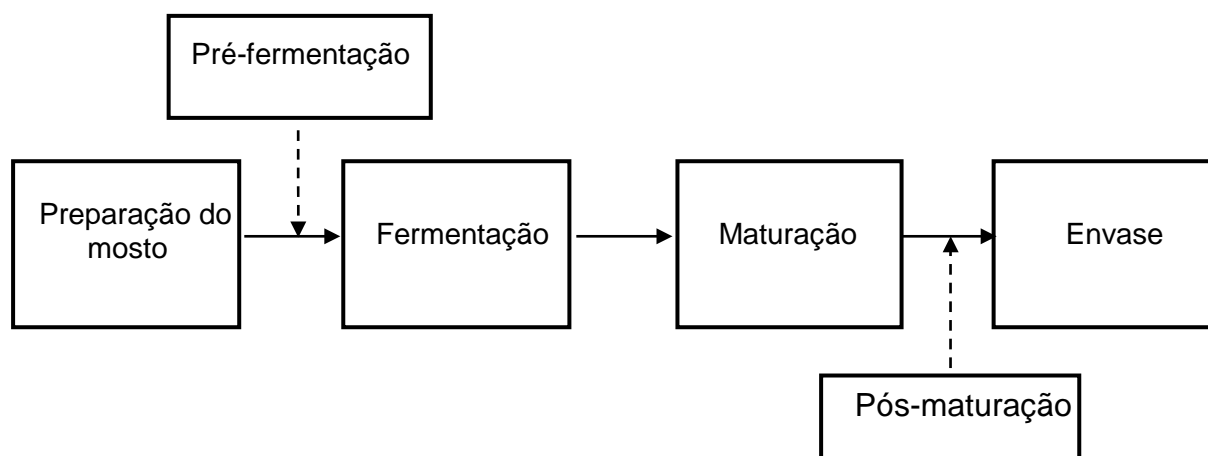


Fig 12 - Exemplo dos pontos de adição das ervas

4.2. Cepa utilizada

A cepa selecionada para avaliar a adição de sabor foi de uma *Saccharomyces cerevisiae* US-05, vendida comercialmente pela empresa Franco-belga Fermentis. A levedura utilizada possui um perfil de sabor neutro, tendo pouca produção de ésteres e fenóis com caráter frutado, baixa produção de diacetil (*off-flavor*) e alta floculação, ou seja, um fermentado mais limpo tanto em cor quanto em sabor. Ideal para produções de cervejas de palato limpo e

suave do tipo ale, como Blond, Kolsch e Pale. A tabela 8 apresenta o perfil de produção de alguns compostos de aroma e sabor, além da eficiência da linhagem na fermentação (atenuação aparente) e condição ideal de temperatura segundo a empresa Fermentis.

Ésteres Totais	40 ppm - 18°Plato à 20°C
Álcoois superiores	269 ppm - 18°Plato à 20°C
Açúcares residuais	11 g/L
Atenuação aparente	81%
Temperatura de fermentação	12-25°C (idealmente 15-

Tabela 8 – Características da cepa utilizada US-05 Fermentis.

4.3. Preparação do inóculo

A cepa de *Saccharomyces cerevisiae* US-05 foi mantida com a cultura de tubos de ensaio inclinados com ágar Yeast Medium (YM) por 3 dias a temperatura de 28,5°C e em seguida mantida sobre refrigeração. Material foi raspado de um dos tubos de cultura, transferido para um erlenmeyer contendo 10 mL de meio YM por 24 horas a 28,5°C em um *shaker* a 120 rpm. Depois o volume fermentado é adicionado em um erlenmeyer contendo 90 mL de extrato de malte a 10°Brix e fermentado nas mesmas condições.

A cepa é novamente repicada em um volume de 900mL de extrato de malte a 10°Brix nas mesmas condições, para finalmente ser repicada em um volume de 3L com agitação magnética à uma temperatura de 20°C por 48 horas.

Do fermentado final foram realizadas contagens em câmara de Neubauer em microscópio óptico Marca Micronal. Para cada amostra seguiu-se a taxa de inoculação de 100 milhões/mL°Brix

4.4. Desenvolvimento de método de produção de cervejas em escala de bancada

Para poder realizar diversos testes em paralelo e com custo reduzido, foi necessário trabalhar em pequenas quantidades de reagentes e volume de cerveja. No entanto, os riscos inerentes à manipulação aumentam, possibilitando problemas como contaminações e oxidação da cerveja produzida. Dessa forma, a primeira etapa do trabalho foi otimizar as condições de operação em da produção em escala de bancada com um volume final de 3L.

4.4.1. Preparação do mosto

Inicialmente o mosto foi preparado do modo convencional, utilizando-se grãos de malte e contando com todas as etapas normais do processo (brasagem, filtração, fervura e resfriamento). Entretanto a variabilidade entre cervejas pode ser considerável quando levado em conta a diferença quanto a eficiência da brasagem e o teor de proteína, açúcares e enzimas dos maltes utilizados em cada uma das bateladas. De modo que a produção do mosto é feita a partir do uso de extrato de malte como fonte de açúcares, visto que todas podem ser feitas de um extrato de malte de um mesmo lote, diminuindo variações quanto à quantidade de açúcares, justificando a escolha do extrato de malte.

Para produzir um mosto doce não lupulado com a quantidade de açúcares desejável se é adicionado aproximadamente 3,3 kg de extrato de malte seco claro, a densidade é acompanhada através de um refratômetro e qualquer correção é feita com adição de mais água ou extrato de malte, de modo a se obter uma cerveja com densidade de aproximadamente $1,050 \pm 0,005$. Uma densidade que está em concordância com os estilos de cerveja propostos anteriormente.

A etapa da fervura foi suprimida simplesmente a uma pasteurização do mosto doce por 75°C durante 15 minutos, seguida de uma rápida refrigeração do mosto com o auxílio de um trocador de calor do tipo *Chiller*. Como não existe uma fervura a isomerização do lúpulo com o calor não é possível, logo a forma de se amargar a cerveja é através da adição de um chá de lúpulo previamente produzido. O chá de lúpulo é adicionado no mosto doce resfriado antes da inoculação da levedura.

4.4.2. Preparação do chá de lúpulo

Com o intuito de simular a fervura e padronizar as cervejas, foi produzido um chá de lúpulo com a adição de 25 g de lúpulo para 500 mL de água em um erlenmeyer. O erlenmeyer deve ser autoclavado a 121°C por 15 minutos. A autoclavagem produz um efeito similar à de uma fervura de 60 minutos de modo a conseguir um efeito de isomerização do lúpulo da mesma forma, entretanto em menos tempo (Deeds, 2013).

4.4.3. Fermentação

Algumas melhorias quanto ao design do fermentador foram realizadas, principalmente por problemas relativos a retirada de amostras e do produto finalizado. Quando utilizado o primeiro modelo de reator (Fig. 13), as retiradas de amostras eram realizadas com uma pipeta esterilizada e uma lamparina, entretanto a abertura e fechamento favoreciam a entrada de ar no *headspace* do fermentador, favorecendo o crescimento de microrganismos aeróbicos que podem afetar negativamente o sabor do produto. A retirada do fermentado era realizada pelo método de sifonamento, o qual fazia a cerveja entrar em contato com o oxigênio do ar e produzindo mesmo que em pequena quantidade a oxidação do produto.



Fig 13 – Modelo inicial



Fig 14 – Modelo final

O segundo modelo de reator (Fig 14) tem a vantagem da retirada tanto de amostra quanto do produto finalizado ser realizado sem a abertura do frasco e com a injeção de CO₂, no caso o mesmo gás utilizado para produzir efeito de carbonatação no produto. Da mesma forma que a injeção de inóculo ou um extrato pode ser efetuado pelo mesmo sistema sem necessitar a abertura do mesmo como é exemplificado na figura 15, logo abaixo.



Fig 15 – Exemplo de extração de fermentado e adição de extrato aquoso

4.4.4. Gaseificação

As cervejas uma vez fermentadas e maturadas passam pelo processo de adição de gás carbônico de forma a conferir o efeito frisante na bebida. Duas técnicas foram empregadas, sendo a primeira a refermentação em garrafa e a segunda a carbonatação forçada através do sistema *Carbonator Cap*[®]. A refermentação em garrafa é um processo onde deve-se adicionar

uma nova quantidade de açúcares de modo a iniciar uma segunda fermentação dentro da garrafa e obter o gás carbônico dissolvido na bebida através dela, porém tal processo requer um período de pelo menos uma semana para se obter resultados satisfatórios.



Fig 16 – Exemplo dos equipamentos utilizados para a carbonatação.

O processo de fermentação em garrafa também produz pequenas mudanças no sabor da bebida, devido a autólise de leveduras na garrafa (White & Zainasheff, 2010). Já o processo com o *Carbonator Cap*® produz o efeito frisante em qualquer bebida com apenas algumas horas sem nenhuma alteração de sabor da mesma, e é similar à carbonatação realizada em indústrias, sendo esse um dos motivos pelos quais o método foi adotado, em detrimento da refermentação em garrafa.

4.4.5. Preparo de incubadora/maturadora

O controle de temperatura é fundamental para uma boa fermentação e produção de sabores e aromas dentro do esperado para uma determinada linhagem de levedura. Portanto para possibilitar uma fermentação em paralelo de uma triplicada dos fermentadores produzidos com garrafões de vidro âmbar a instalação de um termostato foi feita em um freezer do tipo horizontal como um meio de se controlara temperatura de fermentação e maturação, no caso 20 e 4°C respectivamente. A quantidade de garrafões condizente a uma variação para as com todas as triplicadas e o freezer adaptado aparece na figura 17 abaixo.



Fig 17 – Exemplo de garrafões fermentadores e incubadora adaptada.

4.5. Preparação do extrato aquoso das ervas

Para este estudo foram utilizadas as ervas mate tostado, macela e carqueja, adquiridos no Mercado Municipal de Curitiba e com exceção do chapéu de couro e picão preto que foram adquiridos no Phyto shop todos em Setembro de 2015, com validade de aproximadamente 6 meses.

Em um erlenmeyer contendo água em fervura adiciona-se a quantidade de erva necessária para os ensaios, no caso 30 g/L. Para tal é pesado uma massa de 3 gramas de cada uma das ervas com a adição de 100 mL de água em ebulição e infundidas por um período de 10 minutos. De modo a terminar a infusão e baixar a temperatura do extrato aquoso, os erlenmeyers são colocados em um banho-Maria com água a temperatura ambiente para efetuar o resfriamento.

Terminada a infusão a solução é filtrada e o líquido armazenado para uso em análises e para a adição nas formulações.

4.6. Métodos analíticos

4.6.1. Determinação da densidade do mosto doce e fermentado através de refratômetro

Com a cerveja descarbonatada adicionar algumas gotas no refratômetro e medir o valor obtido em °Brix ou massa específica, com as devidas correções relativas à temperatura da amostra. Lembrando que as leituras do mosto fermentado necessitam de correção através de tabela encontrada em (Palmer, 2006), já que o álcool e metabólitos secundários afetam a leitura do refratômetro.

4.6.2. Determinação da densidade do mosto doce e fermentado através de densímetro

Adicionar em um proveta 250 mL do mosto doce ou fermentado e com o auxílio de um densímetro medir a densidade do líquido. O valor obtido deve ser corrigido de acordo com a temperatura do líquido com a utilização de uma tabela de correção de temperatura encontrada no livro de (Palmer, 2006).

4.6.3. Determinação da fermentabilidade do mosto por atenuação forçada

O propósito do ensaio é de avaliar o limite de atenuação de um mosto específico. A atenuação é a capacidade de uma determinada linhagem de levedura consumir os açúcares presentes no mosto.

Para isso, uma alíquota de 300 mL é retirada e fermentada a uma temperatura mais elevada, no caso de leveduras de *Ale* 35°C, para *Lagers* a 27°C durante o período de 24 horas. Com o final da atividade tem-se a leitura da massa específica ou Brix. O resultado é utilizado somente para obter o limite da fermentação, atenuação, e não diagnosticar problemas na mesma (Deeds, 2013).

4.6.4. Determinação da cor por espectrometria – AOAC Official Method 976.08

Consiste na leitura de absorbância a 430 nm. É necessário descarbonatar a cerveja com um agitador magnético a uma baixa velocidade de rotação. Em seguida, a amostra é diluída para que a absorbância a 430 nm esteja de acordo com a linearidade do espectrofotômetro. Usar cubetas de 5 mm tem vantagem de se analisar cervejas com grande intensidade de cor sem a necessidade de diluição. Filtra-se a amostra através de uma membrana filtrante de 0,45 µm.

A partir dos resultados obtidos pela absorbância no comprimento de onda de 430 nm pode-se determinar a cor da cerveja em EBC (European Brewery Convention) a partir da fórmula:

$$Cor (EBC) = A \times f \times 50$$

Onde A é a absorbância a 430 nm em uma cubeta de 10 mm e f é o fator de diluição e 50 sendo um fator inerente da técnica, para cubetas de 5 mm se usa 25.

4.5.5. Determinação das unidades de amargor (IBU) – AOAC Official Method 970.11

Consiste de um método reconhecido internacionalmente pela AOAC, EBC (European Brewers Convention e ASBC (*American Society of Brewing Chemists*)) na qual uma extração com iso-octano é realizada e quantificada em espectrofotômetro de modo a se padronizar uma unidade para a sensação do paladar conhecida como amargor.

Pipetar 10,0 mL de cerveja descarbonatada em um tubo de centrífuga de 35 mL ou um frasco cônico de 50 mL. Adicionar 0,5 mL de HCL (6mol/L) e 20 mL de iso-octano. Adicionar 2 a 3 contas de vidro no tubo. Fechar os tubos hermeticamente e agitar por 15 minutos a uma temperatura de 20±1 °C até que a extração tenha alcançado o seu limite, agitar em um shaker rotatório a 130 ± 5 rpm ou agitar manualmente. Medir a absorbância da fase do iso-octano a 275 nm em intervalos durante a extração até que a absorbância esteja estabilizada.

Deixar a emulsão decantar, centrifugar os tubos por 3 minutos a 3000 rpm (ou usar um funil de separação) Medir a absorbância da fase iso-octano em uma cubeta de 10 mm a 275 nm, usando o iso-octano puro como referência. Antes de realizar a medição a cubeta deve ser lavada com uma parte da fase de iso-octano. Anotar a absorbância medida após alguns segundos.

A absorvância deve ser feita com até 20 minutos após acentrifugação (ou separação no funil) porque maiores atrasos afetam a medida.

$$\text{Amargor (IBU)} = 50 \times A_{275}$$

Onde A_{275} é a absorvância a 275 nm medida com iso-octano como referência.

4.5.6. Métodos para determinação de capacidade antioxidante

4.5.6.1. Determinação de capacidade antioxidante pelo método CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)

A análise é efetuada preparando-se três soluções reagentes: 1) uma solução de cloreto de cobre (II) a 0,01 M, preparada com dissolvendo-se 0,4262 g de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em 250 mL de água deionizada; 2) uma solução tampão de amônio de pH 7 a 1 M, preparada dissolvendo-se 19,27 g de acetato de amônio, e 3) uma solução de neocuproina a 7,5 mM preparada diariamente, dissolvendo 0,039 g de neocuproina em 25 mL de etanol à 96% (Apak, et al., 2014; Cekic, et al., 2009; Alam, et al., 2013).

Na análise, em um tubo de ensaio adiciona-se 1 mL de solução de Cu(II) , 1 mL de solução tampão, 1 mL da solução de neocuproina e 0,5 mL da amostra e completa-se para um volume total de 4,1 mL com 0,6 mL de água deionizada. Deixa-se a mistura reagir por 1 hora e em seguida determina-se a absorvância a 450 nm e compara-se com um reagente branco (Apak, et al., 2014). A curva padrão foi efetuada utilizando o mesmo procedimento usado para o Trolox® (6,25-100,0 μMol).

4.5.6.2. Determinação de capacidade antioxidante pelo método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

A análise é efetuada com o auxílio de uma micro placa de 60 poços, onde adiciona-se 25 μL de amostra, 150 μL de fluoresceína e 25 μL de AAPH. A fluoresceína e o AAPH são adicionados de maneira automática pelo equipamento TECAN *Infinite*® 200MPRO, o qual possui injetores automáticas e dois reservatórios para as soluções reagentes (Prior, et al., 2005).

A amostra é excitada a um comprimento de onda de 485 nm, e em seguida são feitas leituras da diminuição da fluorescência a 528 nm durante um período de 60 minutos, com leituras a cada intervalo de 60 segundos. A reação deve ocorrer a uma temperatura de $37^\circ\text{C} \pm 0,5$, a qual corresponde a faixa ótima de produção de radicais através do reagente AAPH (Alam, et al., 2013; Tafulo, et al. 2010).

Os poços exteriores da microplacas são preenchidos com 300 μL de água deionizada de forma a garantir uma maior estabilidade térmica da análise.

$$AUC = 1 + \sum_{i=0}^6 f_i / f_0$$

AUC = Atividade antioxidante

f₀ = fluorescência inicial

f_i = fluorescência no tempo i

i = tempo

4.5.6.3. Determinação de fenóis totais por Folin-Ciocalteu

O ensaio consiste primeiramente da construção de uma curva de calibração, onde se utiliza o ácido gálico como padrão. A partir de solução mãe de ácido gálico são preparadas diversas concentrações, no caso variando de 3,9 a 125 mg/L. Para todas as concentrações e amostras adiciona-se em um tubo de ensaio 0,5 mL de amostra e 2,5 mL de uma dissolução seriada de 1:1000 do reagente de Folin-Ciocalteu, que se deixa reagir no escuro por 5 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, são adicionados 2 mL de carbonato de sódio a 7,5% v/v, a solução é homogeneizada e mantida por 1 hora em repouso e abrigo da luz. Cada uma das amostras deve ser determinada em espectrofotômetro a uma absorvância de 740 nm (Alam, et al., 2013; Turkmen, et al., 2006; Tafulo, et al., 2010). Utilizando-se o metanol como branco da reação, as amostras são expressas em equivalentes de ácido gálico (GAE), ou seja, mg de ácido gálico por g da amostra. O GAE pode ser calculado usando-se a seguinte equação:

$$GAE = \frac{C \times V}{m}$$

Onde:

GAE = equivalente em ácido gálico;

C = Concentração de ácido gálico em mg; V = Volume de amostra no teste;

m = massa do extrato em g.

5. Resultados e discussão

Este trabalho foi conduzido com alguns experimentos exploratórios, os quais se definiu a forma de produzir pequenos lotes de cervejas modificadas com a adição de ervas, seguido da seleção de ervas foi realizada com base na literatura e uso popular, e finalmente a produção das cervejas em si e a sua análise físico química. As formulações produzidas foram objeto de 4 pedidos de depósito de patente, conforme Anexo 4.

O processo desenvolvido consiste na adição dos extratos aquosos, ou das próprias ervas, em diferentes pontos do processo produtivo. No entanto, dada a necessidade de padronizar as formulações, garantir repetitividade e diminuir número de experimentos, as formulações para estudo de potencial antioxidante usaram exclusivamente extratos aquosos.

5.1. Experimentos exploratórios

Com o objetivo de explorar a viabilidade do experimento em uma pequena escala, uma primeira batelada de cerveja foi produzida. 5 fermentadores de 4 L contendo 3 L de cerveja foram produzidos. Como intuito de verificar diferenças de sabor entre extrato e folha da erva-mate torrada usamos uma mesma cepa de levedura com a característica de boa atenuação do mosto e caráter límpido de aroma e sabor.

O mosto foi produzido com 3 kg de malte Pilsen, 0,5 kg de malte Melanoidina Light e 0,5 kg de malte Munich. A rampa de brasagem consistiu de uma infusão 67,8°C durante 60 minutos seguido de um aumento da temperatura até 75,6°C durante 10 minutos e manter a mesma temperatura por mais 10 minutos.

A adição de folha e extrato ocorreu na etapa de maturação durante o período de um dia. Onde o fermentador nº1 funcionou como controle, não contendo nenhuma adição, os fermentadores nº2 e 3 tiveram a adição de 5 g de extrato seco de erva-mate torrada, os fermentadores nº4 e 5 tiveram a adição de 3 g de folhas de erva-mate torrada.

As cervejas foram carbonatadas com uma segunda fermentação em garrafa com adição 9 g de açúcar refinado em solução aquosa como fonte de carbono para produção de gás. Foram obtidas 4 garrafas de 600 mL por fermentador.

Tal método se mostrou pouco eficiente e um alto tempo de produção devido à carbonatação por segunda fermentação em garrafa quando comparado-se a uma carbonatação forçada. Pôde-se observar uma notável mudança do sabor nos experimentos iniciais com mate tostado, devido à segunda fermentação em garrafa.

Levando-se em conta a grande variabilidade dos insumos utilizados para a produção, além de possíveis variações inerentes do processo como a brasagem, optou-se utilizar o extrato de malte seco como forma de substituir carboidratos produzidos através da sacarificação dos grãos de malte na etapa de brasagem. O extrato de malte seco permitiu um maior controle da quantidade de açúcares presente em cada batelada de cerveja e também um maior padrão de qualidade, visto que o extrato utilizado era proveniente de um mesmo lote.

Ensaio preliminares com a adição de cada uma das ervas em cervejas comerciais foram realizados de modo a determinar a quantidade a ser adicionada para se obter um sabor equilibrado, lembrando-se que a intenção é de se adicionar um sabor e não sobressair os demais sabores característicos da cerveja através de uma adição extremamente concentrada de alguma das ervas.

Foram produzidas infusões de concentrações de 10, 30 e 50 g/L. Para um volume de 100 mL de cerveja são adicionados 10 mL dos chás produzidos. Nota-se um melhor equilíbrio de sabor para a concentração de 30 g/L. Quando se adiciona somente 10g/L o sabor não produz intensidade suficiente para se destacar na cerveja, e na adição de 50 g/L temos um sabor predominantemente das ervas adicionadas.

Ressalta-se que diferenças entre as ervas em intensidade são evidentes, mas com tal concentração pode-se comparar o sabor, cor e capacidade antioxidante com adições de mesma ordem. A definição de qual é a melhor concentração para cada uma das ervas geraria um trabalho em paralelo de desenvolvimento de produto. Como a intenção neste trabalho é de buscar quais ervas poderiam ter uma maior aceitabilidade e potencial antioxidante, não foi realizada a otimização individual de formulações para cada erva.

5.2. Determinação de fermentabilidade através de fermentação forçada

A fermentação de uma alíquota de mosto doce não lupulado feita em condições de temperatura mais elevadas que a fermentação e com a mesma quantidade de inóculo serviu como referencial limite de fermentação, ou atenuação, do mosto. Seja por características da linhagem utilizada ou por características do processo que possam afetar a eficiência da fermentação, pois leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae* não possuem a capacidade de consumir certos tipos de açúcares como dextrinas.

Densidade (g/cm ³)	Mosto autoclavado	Mosto não autoclavado
Densidade Original (OG)	1,057	1,057
Densidade Final (FG)	1,038	1,017
Teor alcoólico estimado (ABV)	2,5%	5,3%
Atenuação aparente (%)	32%	69%

Tabela 10 – Teste atenuação forçada com extrato de malte

Foi evidenciado que fervuras maiores que uma hora e até a autoclavagem do mosto a base de extrato de malte tinha uma atenuação muito menor do que daquela de um mosto sem o tratamento térmico. Reações de Maillard e de pardamento, apesar de produzirem sabores

desejáveis para alguns estilos de cerveja, podem comprometer os açúcares fermentescíveis do mosto, produzindo uma cerveja de menor teor alcoólico que o esperado e também leve sabor adocicado(Bamforth,2002).

5.3. Determinação de cor da cerveja

Mudanças na cor da cerveja eram esperadas, já que algumas das ervas possuem intensidades diferentes de cor nas suas infusões. Entretanto a diferença demonstrou ser mínima visualmente. Somente com o auxílio de um espectrofotômetro foi possível notar alguma diferença entre as formulações propostas.

Diferenças entre pontos de adição das ervas não foram perceptíveis com a quantidade de ervas adicionadas, mesmo para o mate que possui uma forte cor âmbar escuro. A diferença entre os pontos de adição se devem principalmente pela qualidade do extrato de malte utilizado, que apesar de ser do mesmo fabricante, apresentou grande diferença de cor entre lotes. Fato que explica a diferença de cor entre brancos de diferentes lotes.

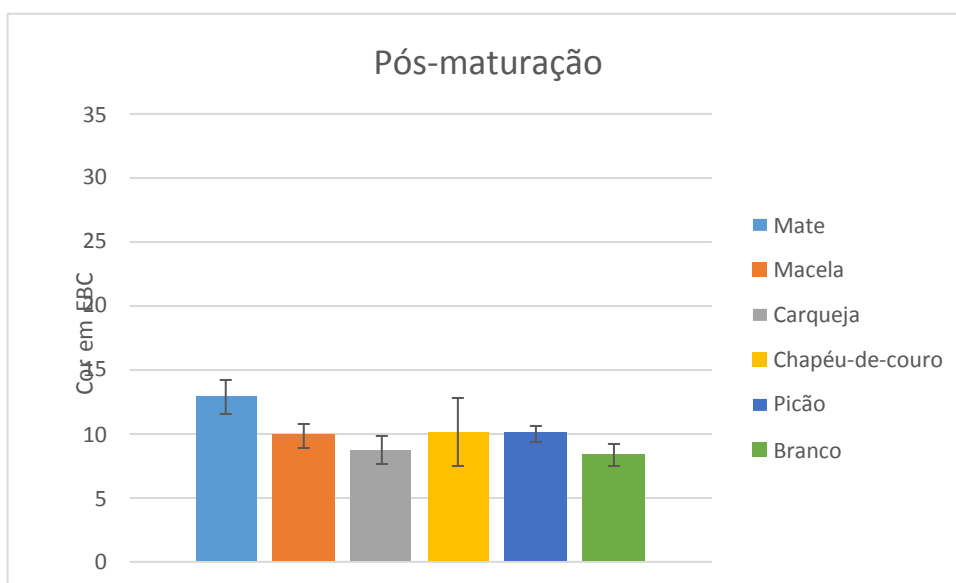


Figura 18 – Cor das cervejas produzidas com ervas com adição 30g/L após maturação

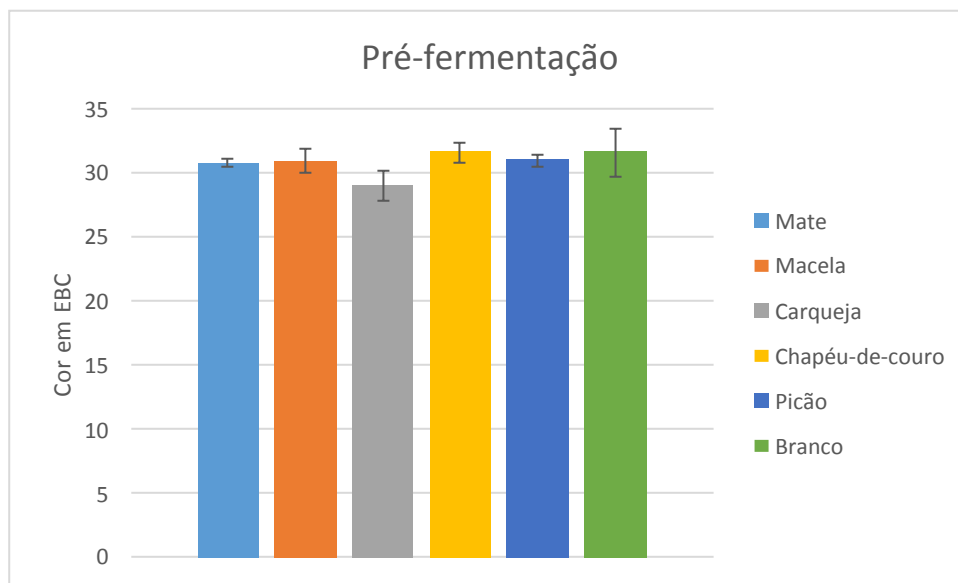


Figura 19 – Cor das cervejas produzidas com ervas com adição 30g/L antes da fermentação

5.4. Determinação do amargor em IBU

Os ensaios realizados com as cervejas produzidas demonstraram pouca variação do amargor das cervejas quando existe a adição de ervas nas mesmas. Diferenças entre etapas podem ser atribuídas a diferença de densidade de algumas das amostras e interações de moléculas das ervas com outras da cerveja ou mesmo com o metabolismo da levedura.

As diferenças entre a densidade (quantidade de açúcar no mosto) das adições pode ser o responsável pela diferença entre as duas amostras, visto que na adição pré-fermentação as formulações possuem um pouco mais de açúcar, logo a mesma quantidade de ervas e lúpulo não produzirá um efeito de amargor igual a uma amostra com menos açúcares. Pois açúcares residuais podem causar uma leve sensação de doçura residual na cerveja.

O ensaio foi também realizado com as ervas, entretanto leituras não condizentes provaram não ser um método de aplicação a chás e infusões de ervas.

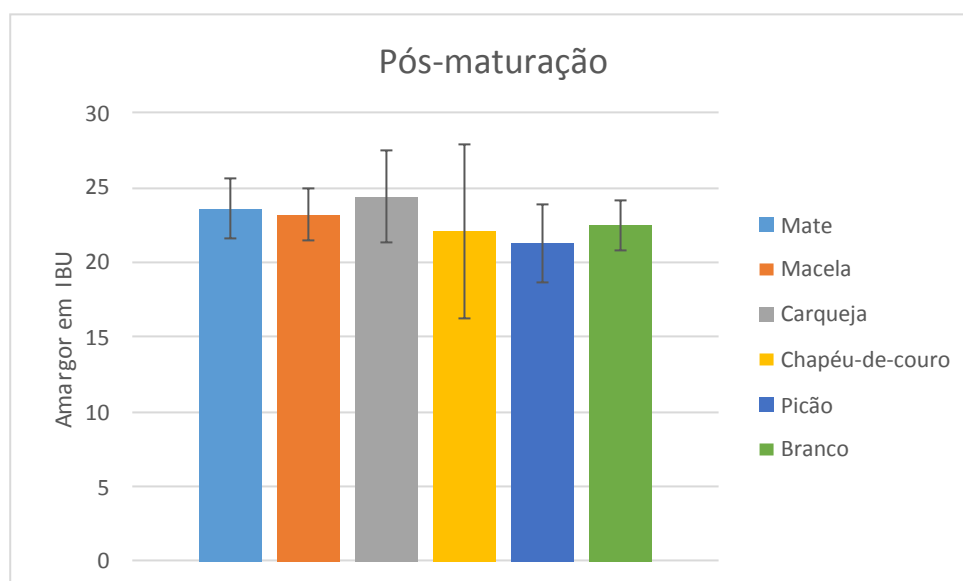


Figura 20 – Amargor das cervejas produzidas com ervas com adição após a maturação

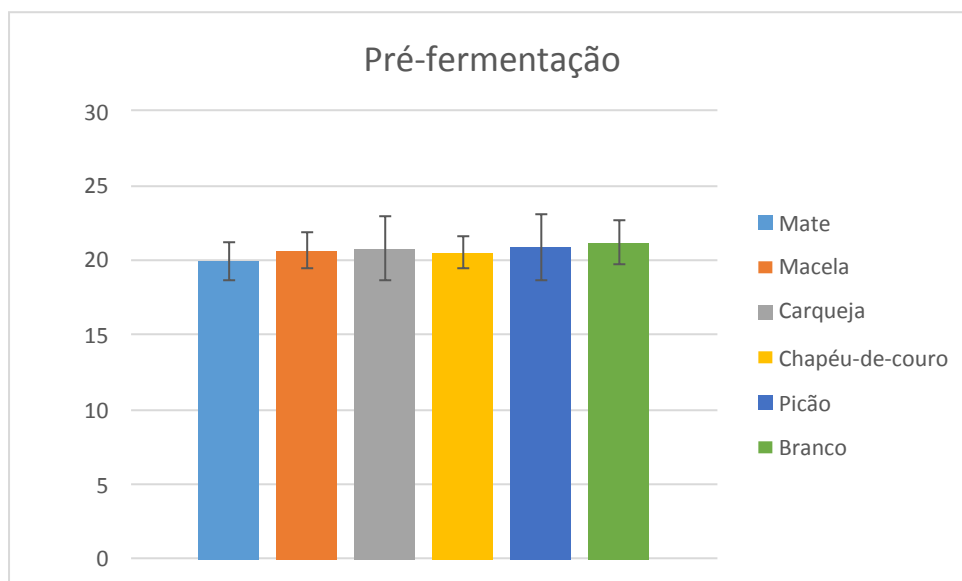


Figura 21 – Amargordas cervejas produzidas com ervas com a adição antes da fermentação

5.5. Determinação de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu

O método de Folin-Ciocalteu não apresentou resultados satisfatórios quanto às cervejas e suas adições em diferentes etapas do processo como pode se observar nos gráficos (Fig 22 e23). Não se observou nenhuma diferença significativa entre etapas e formulações diferentes. Com relação às ervas utilizadas, elas apresentaram diferenças significativas quanto ao seu teor de fenóis totais, entretanto a análise foi feita logo após o preparo da infusão. A análise quando

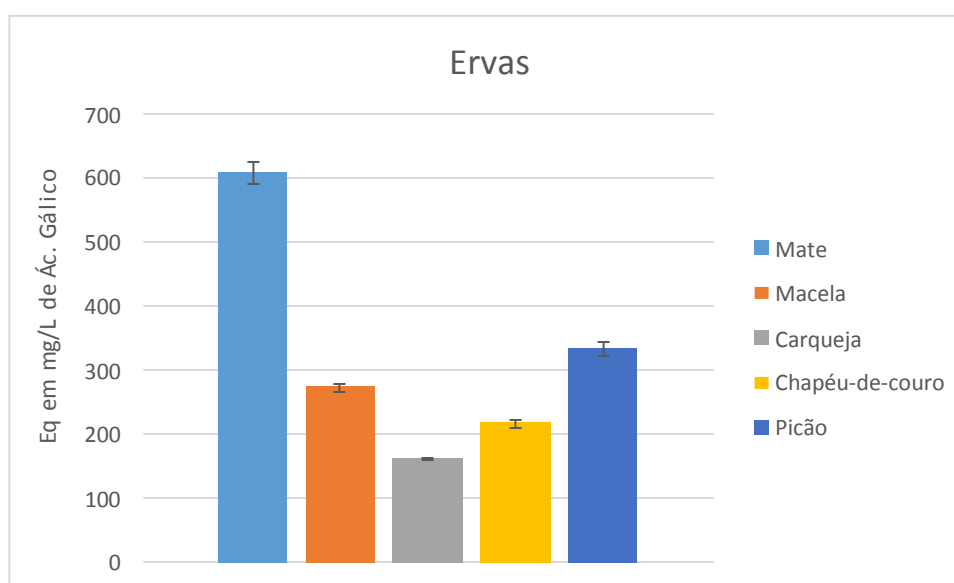


Figura 22 – Fenóis totais das ervas infusões de 30g/L segundo método Folin-Ciocalteu

feita alguns dias após o preparo do chá já demonstrava resultados diferentes do observado, alteração que pode se repetir na formulação das cervejas. Análises de antioxidantes realizadas com erva mate em diversas concentrações e temperaturas de infusão apresentam resultados superiores quando usados em concentração de 20 g/L, com resultados de ordem de 2000 - 3000 mg equivalente de ácido gálico por g/L (Santos, et al., 2015).

Deve-se lembrar que a erva-mate utilizada é do tipo torrada, passando por um processo de tratamento térmico que além de conferir cor e sabor, degrada moléculas de valor nutricional e possivelmente com potencial antioxidante. Valores semelhantes ao obtido pelo método de Folin-Ciocalteu são relatados por (Turkmen, et al., 2006) no qual o chá mate quando preparado com água apresenta um valor de 65 mg/g de equivalente em ácido gálico, enquanto o valor obtido no presente estudo é de 60 mg/g para o chá mate feito em uma concentração de 10g/L.

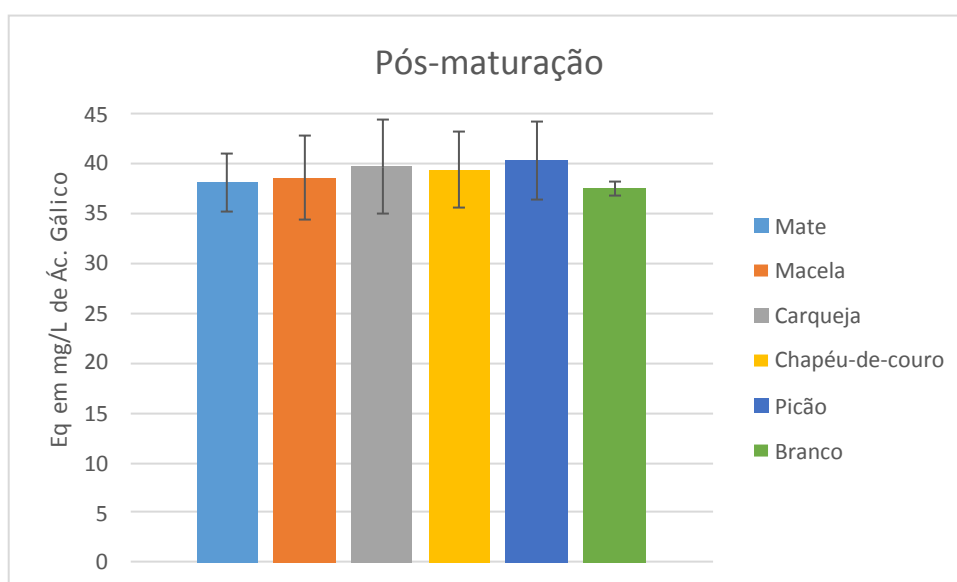


Figura 23 – Fenóis totais das cervejas com adição pós-maturação segundo método Folin-Ciocalteu

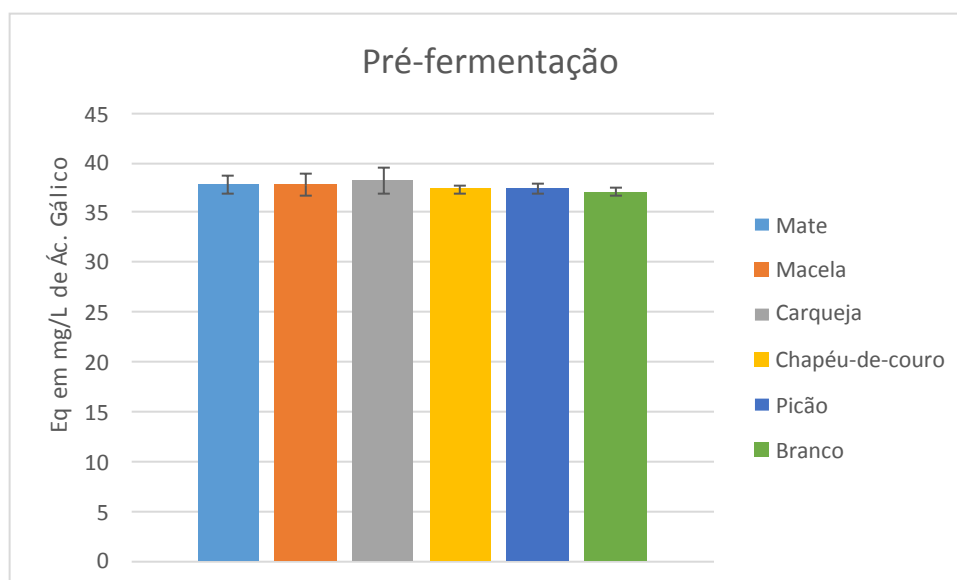


Figura 24 – Atividade antioxidante das cervejas com adição pré-fermentação segundo método Folin-Ciocalteu

Verifica-se em especial que a atividade antioxidante como fenóis totais das cervejas com adição pré-fermentação foi equivalente à da cerveja sem adição, o que pode indicar que no processo houve degradação ou remoção (e.g. precipitação) das substâncias antioxidantes.

5.6. Determinação da capacidade antioxidante pelo método CUPRAC

O método CUPRAC apresentou alguns resultados distintos dos outros métodos quanto às diferentes formulações, onde é percebido uma capacidade antioxidante um pouco mais elevada para o picão e chapéu-de-couro, que para os chás figuram como menores que a da erva-mate tostada. Esta última não apresentou mudanças positivas quanto a capacidade antioxidante nas formulações como pode ser visto nos gráficos presentes nas figuras 25, 26 e 27.

Tal diferença se apresentou com uma diminuição dessa capacidade, sugerindo novamente interações entre moléculas presentes nos extratos aquosos com compostos presentes no fermentado ou no metabolismo da levedura. Considerando-se que a diminuição dessa capacidade ocorreu quando a adição foi feita antes da fermentação. Um perfil semelhante ao do método de Folin-Ciocalteu se apresentou quando o teste foi realizado com as ervas utilizadas.

Segundo (Nakamura, et al.,2013) a carqueja apresenta uma capacidade antioxidante maior que a da erva-mate verde, contrariando os resultados obtidos. Uma comparação direta entre estudos não é possível visto que a curva padrão produzida pelo o estudo utiliza o ácido ascórbico como padrão. Entretanto fatores como o armazenamento, idade da planta e condições de cultivo afetam diretamente o resultado do ensaio. Estudos das outras ervas utilizadas com este método ainda não foram publicados, não sendo possível uma comparação com a literatura.

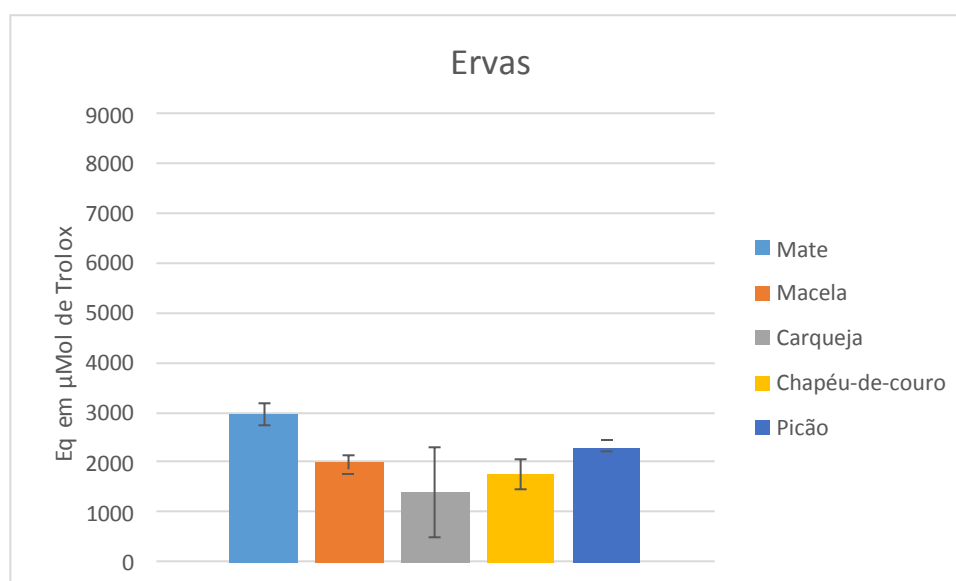


Figura 25 – Atividade antioxidantedas ervas segundo método CUPRAC

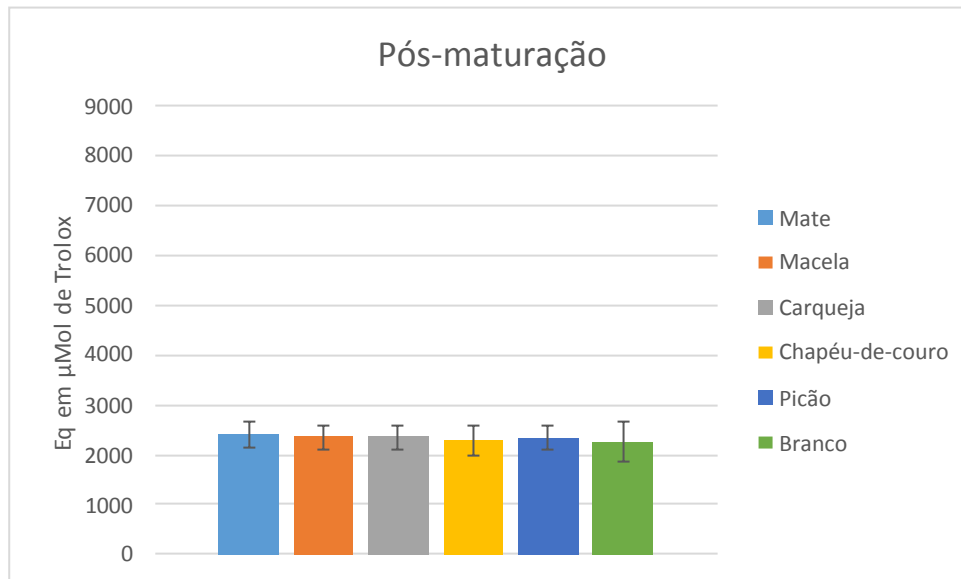


Figura 26 – Atividade antioxidantedas cervejas com adição pós-maturação segundo método CUPRAC

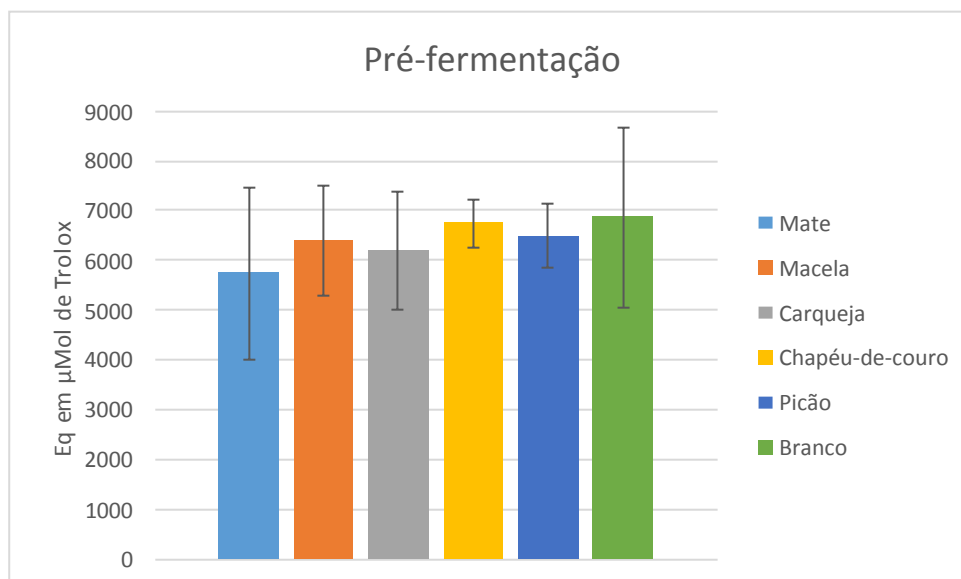


Figura 27 – Atividade antioxidantedas cervejas com adição pré-fermentação segundo método CUPRAC

5.7. Determinação da capacidade antioxidante pelo método ORAC

Os ensaios efetuados segundo o método ORAC apresentaram diferença entre as formulações produzidas. Sendo em ambos os pontos de adição o Picão possuindo uma maior capacidade antioxidante neste método. Porém entre as ervas não figurando como a melhor em teor de antioxidantes, sendo superada somente pelo o chapéu-de-couro. Demonstrando como

compostos diferentes podem reagir de formas diferentes quando utilizadas análises com princípios de reação diferentes.

Entretanto é notável a diferença da capacidade antioxidante para algumas ervas quando a fermentação ocorre com o extrato aquoso. Onde novamente pode-se notar que as ervas podem acabar participando de alguma rota metabólica da levedura, alterando a capacidade antioxidante da mesma com a produção de diferentes compostos. Uma comparação com a literatura ainda não é possível pela falta de publicações confiáveis relativas ao método ORAC com algumas ervas nacionais.

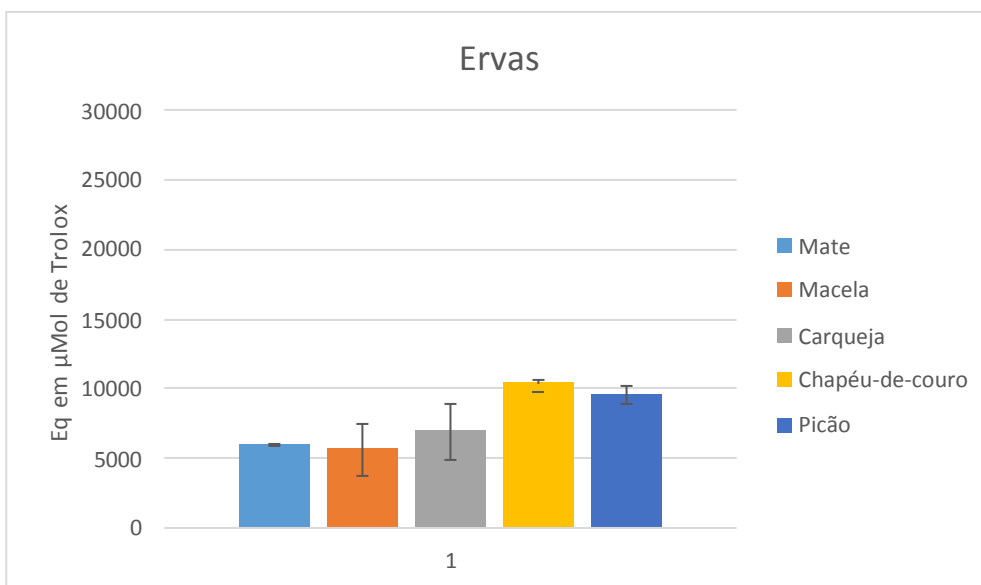


Figura 28 – Atividade antioxidante das ervas segundo método ORAC

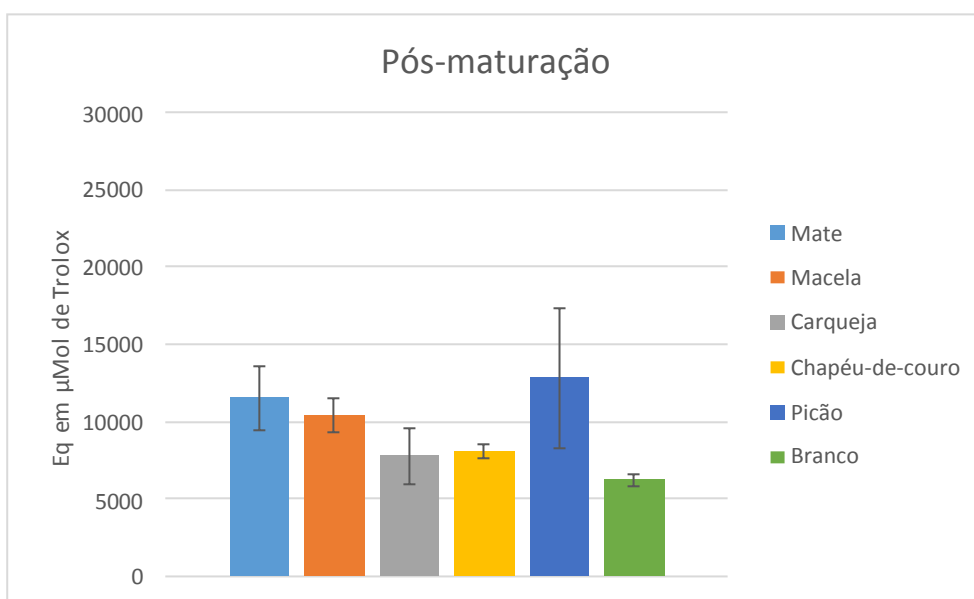


Figura 29 – Atividade antioxidante das cervejas com adição pós-maturação segundo método ORAC

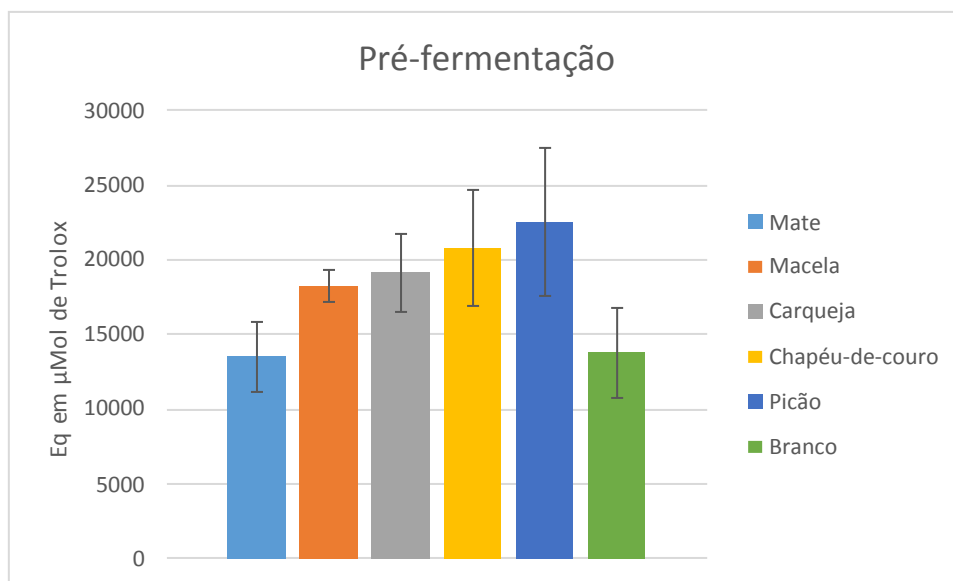


Figura 30 – Atividade antioxidante das cervejas com adição pós-maturação segundo método ORAC

Em suma, verifica-se que a atividade antioxidante das cervejas formuladas não tem sempre correlação direta com a atividade antioxidante original dos extratos aquosos. Duas razões explicam esse comportamento: 1) a adição de extratos foi equivalente a 3 g de erva/L de produto formulado, uma concentração que é justificada pela necessidade de não descaracterizar a bebida, mas que equivale a 10 a 30% da concentração usada em infusões típicas. Essa concentração relativamente baixa pode não permitir aumento significativo da atividade antioxidante das cervejas. 2) A adição pré-fermentação, em particular, pode permitir a degradação ou precipitação de parte dos princípios ativos das ervas.

Ainda assim, as formulações desenvolvidas apresentam potencial atividade antioxidante, em especial pelo que indica o método ORAC. Esses resultados são importantes porque indicam o caminho para o desenvolvimento de novas formulações: é possível preservar parte da capacidade antioxidante das ervas. Em conjunto com análises sensoriais, uma otimização de formulação pode levar a produtos com uma atividade antioxidante mais marcada, mantendo o sabor agradável e diferenciado dado pelas ervas adjuntas.

6. Conclusão

O uso de diferentes métodos antioxidantes pode somente nos dar uma breve noção de como uma determinada erva, bebida ou alimento pode nos trazer de benefício, pois diferentes mecanismos de reação e enzimas estão atuando no corpo humano, sendo assim, impossível prever o comportamento de uma determinada substancia ou uma solução com diversas substancias ditas de capacidade antioxidante.

Diferenças existem entre cervejas quanto a capacidade antioxidante, porém nada que possa se afirmar a superioridade de uma face a outra, pois o efeito de dissolução do extrato aquoso dos chás na cerveja torna a capacidade antioxidante de uma erva antes superior a outra muito pequena quando na cerveja.

Ao se afirmar que uma cerveja possui maior poder antioxidante que outra no mercado um é argumento que tem muita pouca influência no poder de venda do produto, levando-se em conta que na maioria das vezes o consumo de cerveja ou de cervejas especiais é pela busca de um produto de sabor já esperado ou então por sabores diferenciados. Entretanto o mais comum na compra de cervejas em um cenário maior, seria por aquelas de baixo teor alcoólico, refrescante e de baixo custo. Onde o preço é o fator de compra, e não tanto o sabor e composição diferenciada.

7. Trabalhos futuros

- Estudar a viabilidade do uso de frutas e madeiras nativas na produção cervejeira, além de outras ervas nativas.
- Estudar a influência de outras linhagens de levedura e suas interações com as ervas.
- Avaliar a atividade antioxidante das ervas e cervejas através de métodos In vivo.

8. Bibliografia

- Alam, M. N., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman, M., 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(1), pp. 143-152.
- Anvisa, 2010. *Farmacopeia Brasileira*. 5 ed. Brasília: Anvisa.
- Apak, R. et al., 2014. The CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement for Beverages. In: *Processing and Impacton Antioxidants in Beverages*. s.l.:Academic Press, pp. 235-244.
- Bamforth, C. W., 2002. *Standarts of Brewing*. Boulder: Brewers Publications.
- Barth-Haas Group, 2014. *The Barth Report 2014/2015*. [Online]
Available at: http://www.barthhaasgroup.com/images/pdfs/reports/2015/BarthReport_2014-2015_EN.pdf
[Accessed 20 04 2016].
- Bevilaqua, G. A. P., Nedel, J. L., Zuanazzi, J. A. & Correa, C. T., 2001. Geographical distribution and chemical composition of "Chapéu-de-couro" (*Echinodorus* spp.) in the Rio Grande do Sul state, Brazil. *Ciência Rural*, 31(2), pp. 213-218.
- Biondo, T. M. A. et al., 2011. Antisecretory actions of *Baccharis trimera*(Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: Analysis of underlying mechanisms. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 136, pp. 368-373.
- Blum-Silva, C. H. et al., 2015. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*.
- Bona, C. M., Biasi, L. A., Zanette, F. & Nakashima, T., 2005. Propagation of three species of *Baccharis* by cuttings. *Ciência Rual*, 35(1), pp. 223-226.
- Briess Malt, 2001. *Briess Malt & Ingredients*. Co. [Online]
Available at: <http://www.brewingwithbriess.com/> [Accessed 22 04 2016].
- Buhner, S. H., 1998. *Sacred and Herbal Healing Beers*. 1 ed. Boulder: Brewers Publications.
- Cárdenas, M. B. et al., 2006. Toxicological evaluation of an infusion of *Bidens pilosa*. *Pharmacologyonline*, Volume 3, pp. 428-434.
- Cekic, S. D., Baskan, K. S., Tutem, E. & Apak, R., 2009. Modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) assay for measuring the antioxidant capacity of thiol-containing proteins in admixture with polyphenols. *Talanta*, Issue 79, pp. 344-351.
- Chicago Tribune, 2016. *Chicago Tribune*. [Online]
Available at: <http://www.chicagotribune.com/suburbs/oak-park/news/ct-goose-island-sells-original-brewpub-to-anheuserbusch-20160219-story.html>
[Accessed 20 04 2016].
- Chien, S.-C. et al., 2009. Anti-diabetic properties of three common *Bidens pilosa* variants in Taiwan. *Phytochemistry*, Issue 70, pp. 1246-1254.

Cortés-Rojas, F. D. et al., 2013. Bioactive compounds in *Bidens Pilosa* L. populations: a key step in the standardization of phytopharmaceutical preparations. 23(1), pp. 28-35.

Cultura Mix, 2013. *Cultura Mix*. [Online]

Available at: <http://flores.culturamix.com/dicas/picao-a-planta-que-cura>
[Accessed 22 04 2016].

da Silva, C. J., Bastos, J. K. & Takahashi, C. S., 2010. Evaluation of the genotoxic and cytotoxic effects of crude extracts of *Cordia ecalyculata* and *Echinodorus grandiflorus*. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 127, pp. 445-450.

Daniels, R., 2000. *Designing Great Beers*. Boulder: Brewers Publications.

Deeds, S., 2013. *Brewing Engineering*. 2 ed. s.l.:s.n.

Demain, A. L. & Solomon, N. A., 1986. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. s.l.:American Society for Microbiology.

Estadão, 2015. *Estadão*. [Online]

Available at: <http://economia.estadao.com.br/noticias/negocios,ambe-compra-mercearia-artesanal-paulista-colorado,1720869>
[Accessed 20 04 2016].

Fix, G. J., 1993. Diacetyl: Formation, reduction and control. *Brewing Techniques*.

Frida, L., Rakotonirina, S., Rakotonirina, A. & Savineau, J.-P., 2008. In vivo and in vitro effects of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) leaf aqueous and ethanol extracts on primed-oestrogenized rat uterine muscle. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5(1), pp. 79-91.

Garris, A., 2011. *Cornell University*. [Online]

Available at: <http://www.news.cornell.edu/stories/2011/06/states-first-hops-specialist-tap>
[Accessed 22 04 2016].

Georgia, N., 2015. *Chá Benefícios*. [Online]

Available at: <http://chabeneficios.com.br/cha-de-marcela-quais-os-beneficios-dessa-planta/>
[Accessed 24 04 2016].

Haraguchi, L. M. M. & Carvalho, O. B., 2010. *Plantas Mediciniais*, São Paulo: Divisão Técnica Escola Municipal de Jardinagem.

Hieronimus, S., 2012. *For the love of Hops*. Boulder: Brewers Publications.

Hornsey, I. S., 2003. *A History of Beer and Brewing*. 1 ed. Cornwall: The Royal Society of Chemistry.

Hsu, Y.-J. et al., 2009. Anti-hyperglycemic effects and mechanism of *Bidens pilosa* water extract. *Journal of Ethnopharmacology*, Issue 122, pp. 379-383.

Jackson, M., 2009. *Guia Ilustrado Zahar: Cerveja*. 2 ed. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editor Ltda..

Joray, M. B., Palacios, S. M. & Carpinella, M. C., 2013. Understanding the interactions between metabolites isolated from *Achyrocline satureioides* in relation to its antibacterial activity. *Phytomedicine*, Volume 20, pp. 258-261.

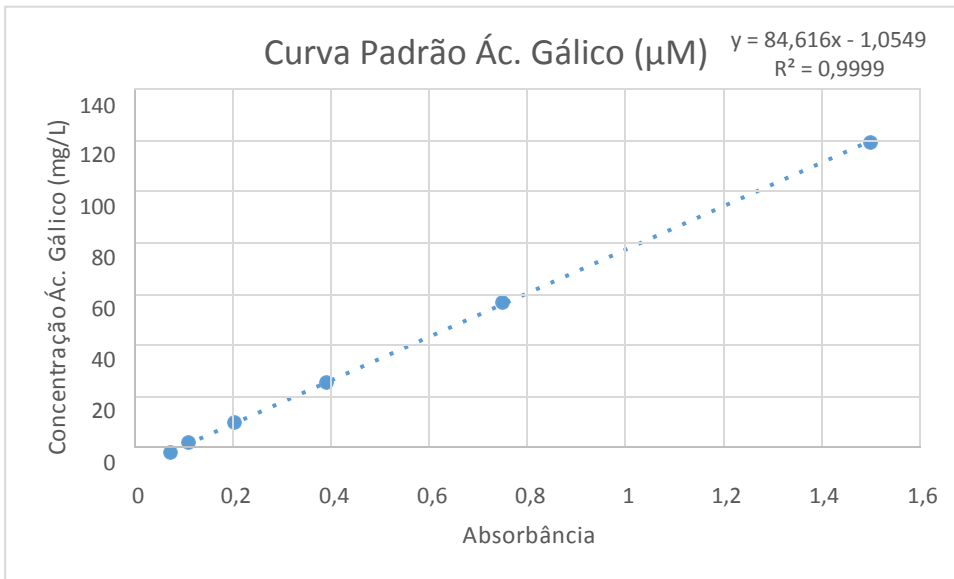
- Khoza, B. et al., 2016. Identification of hydroxycinnamoyl tartaric acid esters in *Bidens pilosa* by UPLC-tandem mass spectrometry. *South African Journal of Botany*, Issue 103, pp. 95-100.
- Kinupp, V. F. & Lorenzi, H., 2014. *Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil*. 1 ed. Nova Odessa: Plantarum.
- Kobayashi, J., Sekiguchi, M., Shigemori, H. & Ohsaki, A., 2000. Echinophyllins A and B, novel nitrogen-containing clerodane diterpenoids from *Echinodorus macrophyllus*. *Tetrahedron Letters*, Volume 41, pp. 2939-2943.
- Leite, J. P. V., Pimenta, D. S., Gomes, R. S. D. L. & Dantas-Barros, A. M., 2007. Contribuição ao estudo farmacobotânico da *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli (chapéu-de-couro) - Alismataceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 17(2), pp. 242-248.
- Leskosek-Cukolovic, I. et al., 2010. Ganoderma lucidum - Medical mushroom as a raw material for beer with enhanced functional properties. *Food Research International*, Volume 43, pp. 2262-2269.
- Lifepel, 2015. *Lifepel*. [Online]
Available at: <http://www.lifepel.com.br/tabela.asp?sessao=Sachet&enviar=selecionar>
[Accessed 22 04 2016].
- Lorenzi, H., 2010. *Plantas Medicinais no Brasil*. 2 ed. Nova Odessa: Plantarum.
- Maclean, C., 2009. *World Whisky*. 1 ed. Londres: Dorling Kindersley.
- Mallett, J., 2014. *Malt*. 1 ed. Boulder: Brewers Publications.
- Martins-Ramos, D., Bortoluzzi, R. & Mantovani, A., 2010. Plantas medicinais de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 12(3), pp. 380-397.
- Mate Couro, 2013. *Mate Couro*. [Online]
Available at: <http://www.matecouro.com.br/produtos/tradicional-e-zero/>
[Accessed 22 04 2016].
- Matsumoto, R. L. T., 2008. *Atividade antioxidante do chá mate (Ilex paraguariensis)*, São Paulo: Universidade de São Paulo - Faculdade de Saúde Pública.
- Mercado das ervas, 2015. *Mercado das ervas*. [Online]
Available at: <http://www.mercadaodaservas.com.br/news.php?newsid=6>
[Accessed 22 04 2016].
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, 26(2), pp. 211-219.
- Morado, R., 2009. *Larousse da cerveja*. 2 ed. São Paulo: Larousse do Brasil.
- Morrissey, N., 2010. *1001 Beers You Must Try Before You Die*. 1 ed. Londres: Quintessence.
- Nakamura, T. et al., 2013. Determinação da atividade antioxidante e do teor total de polifenol em amostras de chá de ervas comercializadas em sachets. *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*, 1(38), pp. 8-16.

- Nogueira, N. P. et al., 2011. In vitro and in vivo toxicological evaluation of extract and fractions from *Baccharis trimera* with anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 138, pp. 513-522.
- Oliveira, R. N. d. et al., 2012. Schistosomamansonii: In vitro schistosomicidal activity of essential oil of *Baccharis trimera* (less) DC. *Experimental Parasitology*, Volume 132, pp. 135-143.
- Palmer, J. J., 2006. *How To Brew*. Boulder: Brewers Publications.
- Palmer, J. & Kaminski, C., 2013. *Water- A comprehensive Guide for Brewers*. Boulder: Brewers Publications.
- Panizza, S., 2002. *Plantas quecuram: cheiro de mato*. 26 ed. São Paulo: Ibrasa.
- Papazian, C., 2003. *The Complete Joy Of Home Brewing*. 3 ed. Nova York: Morrow.
- Pellegrini, N. et al., 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), pp. 2812-2819.
- Pinto, A. C. et al., 2007. Immunosuppressive effects of *Echinodorus macrophyllus* aqueous extract. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 111, pp. 435-439.
- Prior, R. L., Wu, X. & Schaich, K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Issue 53, pp. 4290-4302.
- Retta, D. et al., 2009. Essential oil composition of *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC. (Asteraceae) from different locations of Argentina. *Biochemical Systematics and Ecology*, Volume 36, pp. 877-881.
- Rivera, F., Gervaz, E., Sere, C. & Dajas, F., 2004. Toxicological studies of the aqueous extract from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Marcela). *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 95, pp. 358-362.
- Rodrigues, C. R. et al., 2009. Genotoxic and antigenotoxic properties of *Baccharis trimera* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 125, pp. 97-101.
- Ruppel, T. & Grecsek, H., n.d. *Brewing QC applications Using Headspace Sampling-Gas Chromatography*. [Online]
Available at: www.perkinelmer.com
[Accessed 22 março 2015].
- Sabini, M. C. et al., 2013. Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity and apoptotic induction of an aqueous extract of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 60, pp. 463-470.
- Santos, C. O. et al., 2015. Efeitos da concentração e temperatura de infusões aquosas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) comerciais na determinação de grupos de compostos bioativos. 5° *Simpósio de Segurança Alimentar Alimentação e Saúde*, 29 05.
- Silva, T. M. et al., 2012. Effect of the gamma-radiation on phenol fractions obtained from leaves of *Echinodorus macrophyllus* Mich.. *Radiation Physics and Chemistry*, Volume 81, pp. 22-26.

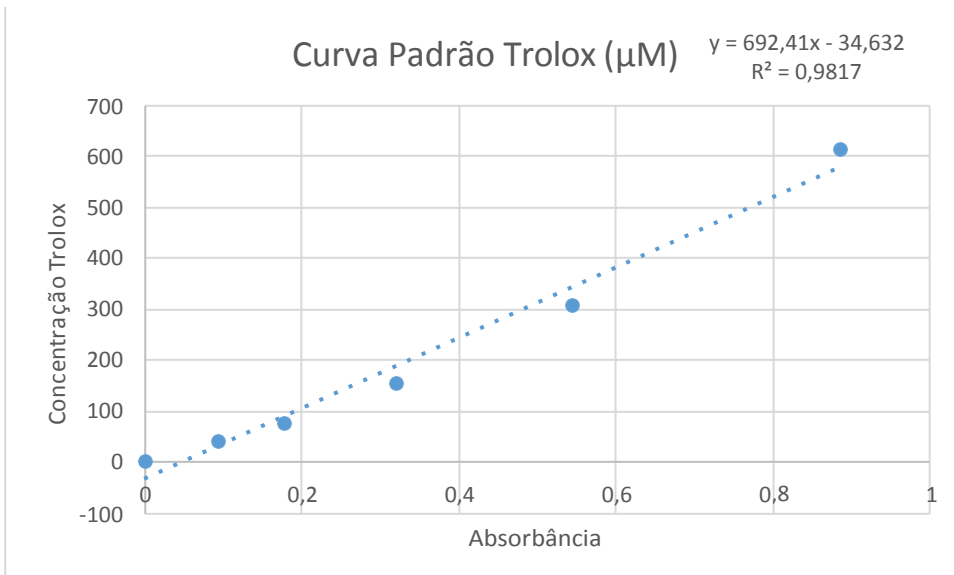
- Silva, T. M. et al., 2013. Changes in essential oil composition of leaves of *Echinodorus macrophyllus* exposed to gama-radiation. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(4), pp. 600-607.
- Standage, T., 2005. *História do mundo em 6 copos*. 1 ed. Rio de Janeiro: Zahar.
- Stevens, J. F. & Page, J. E., 2004. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: to your good health. *Phytochemistry*, Volume 65, pp. 1317-1330.
- Tafulo, P. A. R., Queirós, R. B., Delerue-Matos, C. M. & Sales, M. G. F., 2010. Control and comparison of the antioxidant capacity of beers. *Food Research International*, Volume 43, pp. 1702-1709.
- Tian, J., 2010. Determination of several flavours in beer with headspace sampling-gas chromatography. *Food Chemistry*, Volume 123, pp. 1318-1321.
- Toledo Dias, L. F., de Melo, E. S., Hernandez, L. S. & Bacchi, E. M., 2009. Atividades antiúlcerae antioxidante *Baccharis Trimeria* (Less) DC (Asteraceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, Volume 19, pp. 309-314.
- Tua Saúde, 2014. *Tua Saúde*. [Online]
Available at: <http://www.tuasaude.com/chapeu-de-couro/>
[Accessed 22 04 2016].
- Turkmen, N., Sari, F. & Velioglu, Y. S., 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, Issue 99, pp. 835-841.
- Verstrepen, K. J. et al., 2003. Flavor-Active Esters: Adding Fruitiness to Beer. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(2), pp. 110-118.
- Vichnewski, W., Kulanthaivel, P. & Herz, W., 1986. Drimane derivatives from *Drimys Brasiliensis*. *Phytochemistry*, 25(6), pp. 1476-1478.
- Webb, T. & Beaumont, S., 2012. *O atlas mundial da cerveja - O guia essencial da cerveja ao redor do mundo*. 1 ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira S.A..
- White, C. & Zainasheff, J., 2010. *Yeast The Practical Guide to Beer Fermentation*. Boulder: Brewers Publications.
- Yuan, L.-P. et al., 2008. Protective effects of total flavonoids of *Bidens pilosa* L. (TFB) on animal liver injury and liver fibrosis. *Journal of Ethnopharmacology*, Issue 116, pp. 539-546.
- Zielinski, A. A. F. et al., 2014. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. *Food Research International*, Volume 60, pp. 246-254.

9. Anexos

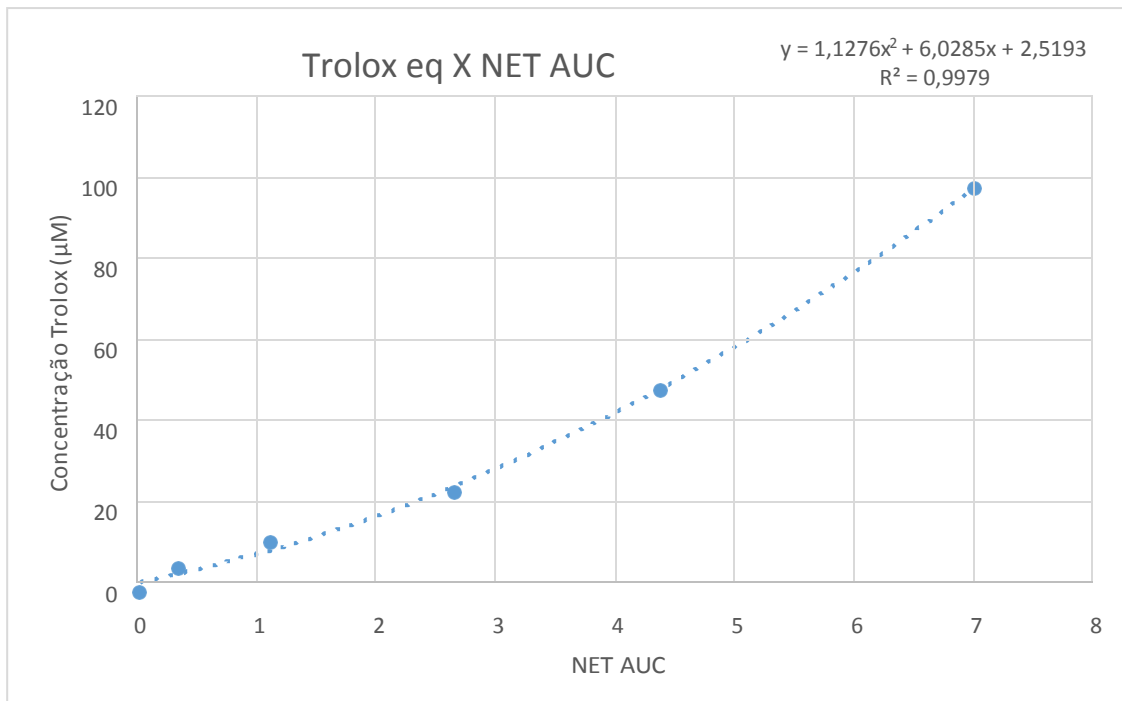
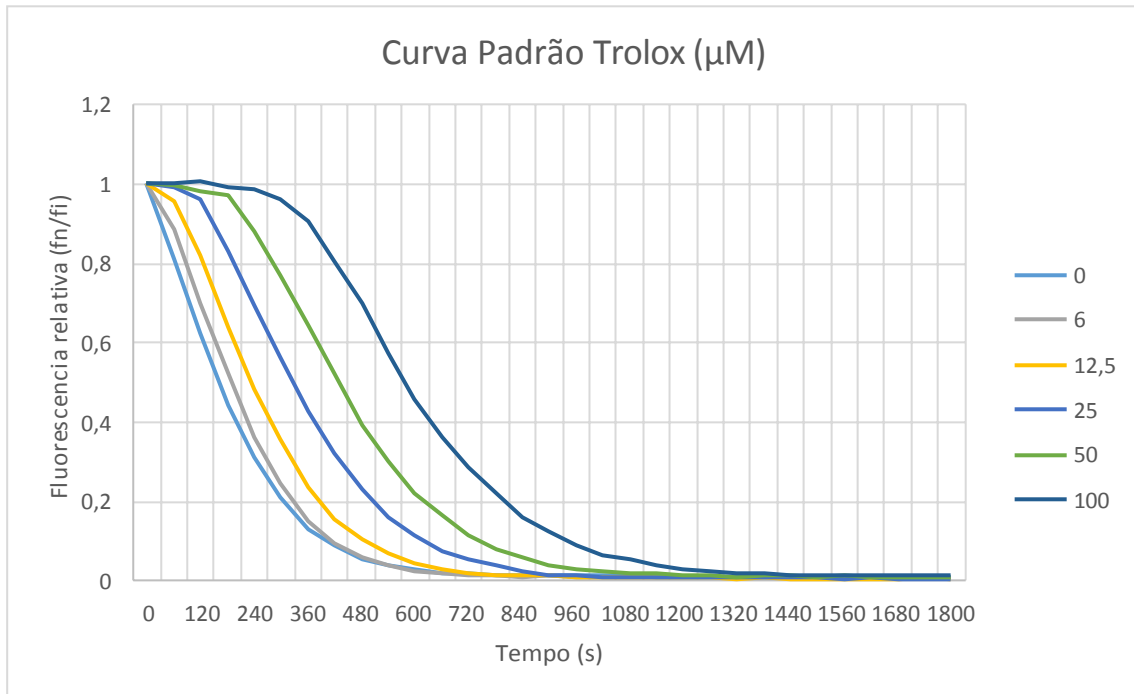
Curva padrão teste Folin-Ciocalteu:



Curva padrão teste CUPRAC:



Curva padrão teste ORAC:



Compilação dos dados de repetições da etapa de adição pós-maturação
Adição após maturação

Repetição	Mate – Adição final			Média
	1	2	3	
Cor (EBC)	13,8	11,5	11,6	12,8 ± 1,3
Amargor(IBU)	25	21,3	24,5	23,6 ± 2,0
OG (g/cm ³)	1,049	1,050	1,052	1,050 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,019	1,021	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	3,94	3,94	4,2	4,0 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	36,2	41,5	36,7	38,1 ± 2,9
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	2274,5	2700,2	2222,5	2399,1 ± 262,1
ORAC (Eq em μM de Trolox)	13855,5	10637,8	10058,1	11517,2 ± 2045,7

Repetição	Macela – Adição final			Média
	1	2	3	
Cor (EBC)	9,4	9,2	10,8	9,8 ± 0,9
Amargor(IBU)	23,9	21,3	24,5	23,2 ± 1,7
OG (g/cm ³)	1,049	1,050	1,052	1,050 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,019	1,021	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	3,94	3,94	4,2	4,0 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	36,4	43,5	35,9	38,6 ± 4,2
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	2160,2	2596,4	2277,9	2344,8 ± 225,6
ORAC (Eq em μM de Trolox)	9788,1	9729,6	11751,8	10423,2 ± 1151,0

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	7,7	8,7	9,9	8,7 ± 1,1
Amargor(IBU)	27,5	21,3	24,5	24,4 ± 3,1
OG (g/cm ³)	1,049	1,050	1,052	1,050 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,019	1,021	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	3,94	3,94	4,2	4,0 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	38,4	44,9	35,8	39,7 ± 4,7
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	2246,8	2637,9	2153,2	2346,0 ± 257,1
ORAC (Eq em μM de Trolox)	7053,9	9873,9	6412,3	7780,0 ± 1841,5

Chapéu-de-couro – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	7,8	12,9	9,6	10,1 ± 2,6
Amargor(IBU)	28,8	18,7	18,7	22,1 ± 5,8
OG (g/cm ³)	1,049	1,050	1,052	1,050 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,019	1,021	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	3,94	3,94	4,2	4,0 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	36,7	43,8	37,6	39,4 ± 3,8
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	2170,6	2617,1	2063,2	2283,7 ± 293,8
ORAC (Eq em μM de Trolox)	8550,4	7749,4	7918,9	8072,9 ± 442,2

Picão preto – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
-----------	---	---	---	-------

Cor (EBC)	9,4	10	10,6	10 ± 0,6
Amargor(IBU)	23,9	18,6	21,3	21,3 ± 2,6
OG (g/cm ³)	1,049	1,050	1,052	1,050 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,019	1,021	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	3,94	3,94	4,2	4,0 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	37,8	44,9	38,4	40,4 ± 3,9
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	2229,5	2631,0	2160,2	2340,2 ± 254,2
ORAC (Eq em μM de Trolox)	11218,4	17892,9	9354,5	12821,9 ± 4489,4

Branco – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	7,3	8,4	9,1	8,3 ± 0,9
Amargor(IBU)	21,8	21,3	24,5	22,5 ± 1,7
OG (g/cm ³)	1,049	1,050	1,052	1,050 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,019	1,021	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	3,94	3,94	4,2	4,0 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	36,9	38,3	37,3	37,5 ± 0,7
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	2018,3	2734,9	2014,8	2256,0 ± 414,7
ORAC (Eq em μM de Trolox)	6273,4	6624,2	5756,2	6217,9 ± 436,7

Compilação dos dados de repetições da etapa de adição pré-fermentação
Adição antes da fermentação

Mate – Adição início				
Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	31,2	30,5	30,8	30,8 ± 0,4
Amargor(IBU)	19,8	21,3	18,8	19,9 ± 1,2
OG (g/cm ³)	1,058	1,055	1,057	1,057 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,021	1,019	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	4,86	4,73	4,86	4,8 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	38,8	37,2	37,4	37,8 ± 0,9
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	3784,0	7107,5	6322,8	5738,1 ± 1737,2
ORAC (Eq em μM de Trolox)	15882,2	11159,9	13394,8	13478,9 ± 2362,3

Macela – Adição final				
Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	30,5	30,3	32,0	30,9 ± 1,2
Amargor(IBU)	20,1	22,0	19,9	20,7 ± 1,1
OG (g/cm ³)	1,058	1,055	1,057	1,057 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,021	1,019	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	4,86	4,73	4,86	4,8 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	39,1	37,1	37,4	37,8 ± 1,1
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	5215,0	7361,4	6622,9	6399,8 ± 1090,4
ORAC (Eq em μM de Trolox)	23409,2	13105,8	18173,9	18229,6

Carqueja – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	30,2	27,9	29,1	29,0 ± 1,2
Amargor(IBU)	18,9	23,2	20,3	20,8 ± 2,2
OG (g/cm ³)	1,058	1,055	1,057	1,057 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,021	1,019	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	4,86	4,73	4,86	4,8 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	39,4	38,5	36,8	38,2 ± 1,3
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	5122,6	7453,7	5976,6	6184,3 ± 1179,3
ORAC (Eq em μM de Trolox)	22122,2	17959,2	17402,5	19161,3 ± 2579,3

Chapéu-de-couro – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	31,6	30,8	32,5	31,6 ± 0,8
Amargor(IBU)	19,6	21,7	20,2	20,5 ± 1,1
OG (g/cm ³)	1,058	1,055	1,057	1,057 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,021	1,019	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	4,86	4,73	4,86	4,8 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	37,9	37,2	37,1	37,4 ± 0,4
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	6369,0	6576,7	7292,2	6745,9 ± 484,3
ORAC (Eq em μM de Trolox)	21469,1	16657,7	24273,2	20800 ± 3851,6

Picão preto – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	31,4	30,5	31,2	31,0 ± 0,4
Amargor(IBU)	18,7	23,1	20,7	20,8 ± 2,2
OG (g/cm ³)	1,058	1,055	1,057	1,057 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,021	1,019	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	4,86	4,73	4,86	4,8 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	37,7	37,6	36,8	37,4 ± 0,5
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	5792,0	6576,7	7084,5	6484,4 ± 651,2
ORAC (Eq em μM de Trolox)	22695,1	17459,8	27347,0	22500,6 ± 4946,5

Branco – Adição final

Repetição	1	2	3	Média
Cor (EBC)	33,8	30,4	30,8	31,7 ± 1,8
Amargor(IBU)	21,7	22,3	19,6	21,2 ± 1,4
OG (g/cm ³)	1,058	1,055	1,057	1,057 ± 0,001
FG (g/cm ³)	1,021	1,019	1,020	1,020 ± 0,001
ABV (%)	4,86	4,73	4,86	4,8 ± 0,1
Folin-Ciocalteu (Eq em μM de Ác Gálico)	37,7	36,8	36,8	37,1 ± 0,5
CUPRAC (Eq em μM de Trolox)	4914,9	7199,9	8469,3	6861,4 ± 1801,22
ORAC (Eq em μM de Trolox)	16327,6	14482,5	10526,3	13778,8 ± 2963,9

Dados análises antioxidantes para ervas

Chás:

Ervas	Folin-Ciocalteu	CUPRAC	ORAC
Chá Mate	609,5 ± 17,1	2969,2 ± 223,6	5944,9 ± 27,6
Macela	272,7 ± 6,7	2005,6 ± 130,6	5642,2,9 ± 1855,1
Carqueja	159,8 ± 1,5	1407,8 ± 910,7	6902,0 ± 2025,6
Chapéu-de-couro	216,1 ± 6,5	1742,5 ± 303,6	10358,2 ± 226,8
Picão-preto	332,4 ± 10,8	2291,8 ± 71,8	9539,4 ± 590,8

Patentes

Patente Erva-mate

Produção de bebida fermentada tipo cerveja a base de malte e extrato solúvel de *Ilex* spp.

Campo da invenção

[0001] A presente invenção refere-se à elaboração de uma cerveja com a inclusão de extrato solúvel (chá) de ervas do gênero *Ilex*, como por exemplo, *Ilex paraguariensis* St. Hil; *Ilex vomitoria*; *Ilex cassine*; *Ilex guayusa*; *Ilex kaushue*; *Ilex affinis*; *Ilex buxifolia*, *Ilex amara*, tanto na forma seca quanto na torrada, beneficiada. Relacionando os diversos métodos de adição de sabores, aromas e substâncias bioativas com características nutracêuticas e funcionais presentes na erva.

Patente Chapéu-de-couro

Produção de bebida fermentada tipo cerveja a base de malte e extrato solúvel de Chapéu-de-couro (*Echinodorus macrophyllum*; *Echinodorus grandiflorus*)

Campo da invenção

[0001] A presente invenção refere-se a elaborada de uma cerveja a base de extrato solúvel (chá) de chapéu-de-couro, (*Echinodorus macrophyllum*; *Echinodorus grandiflorus*), tanto na forma seca quanto na forma fresca. Relacionando os diversos métodos de adição de sabores, aromas e substâncias bioativas presentes no chapéu-de-couro.

Patente Carqueja

Produção de bebida fermentada tipo cerveja a base de malte e extrato solúvel de Carqueja (*Baccharis trimera*)

Campo da invenção

0001] A presente invenção refere-se a elaboração de uma cerveja a base de extrato solúvel (chá) de carqueja, (*Baccharis Trimera*), tanto na forma seca quanto na forma fresca. Além de espécies do genus *Baccharis* como a *Baccharis articulata* e *Baccharis unicella*, as quais também são popularmente chamadas de carqueja. Relacionando os diversos métodos de adição de sabores, aromas e substâncias bioativas presentes no carqueja.

Patente Macela

Produção de bebida fermentada tipo cerveja a base de malte e extrato solúvel de Macela (*Achyrocline satureioides*)

Campo da invenção

[0001] A presente invenção refere-se a elaboração de uma cerveja a base de extrato solúvel (chá) de macela, (*Achyrocline satureioides*), tanto na forma seca quanto na forma fresca. Além de espécies do genus *Achryclicline spp.* como a *Achryclicline flaccida*, *Achryclicline alata* e *Achrycliclinetomentosa*, as quais também são popularmente chamadas de macela. Relacionando os diversos métodos de adição de sabores, aromas e substâncias bioativas presentes na macela.