



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LUAN ÍCARO FREITAS PINTO

**INOVAÇÃO TECNOLÓGICA NA FABRICAÇÃO DE CERVEJA FUNCIONAL:
INCORPORAÇÃO DA RUTINA DE FAVA D'ANTA (*Dimorphandra gardneriana*
Tulasne)**

FORTALEZA

2019

LUAN ÍCARO FREITAS PINTO

INOVAÇÃO TECNOLÓGICA NA FABRICAÇÃO DE CERVEJA FUNCIONAL:
INCORPORAÇÃO DA RUTINA DE FAVA D'ANTA (*Dimorphandra gardneriana Tulasne*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal.

Orientador: Prof^ª. Dra. Dorasílvio Ferreira Pontes.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P728i Pinto, Luan Icaro Freitas.
Inovação tecnológica na fabricação de cerveja funcional: incorporação da Rutina de Fava d'anta (*Dimorphandra gardneriana* Tulasne) / Luan Icaro Freitas Pinto. – 2019.
107 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Dorasilvia Ferreira Pontes.
1. Cerveja. 2. Fava d'anta (*Diporphantra gardneriana* Tulasne). 3. Rutina. I. Título.

CDD 664

LUAN ÍCARO FREITAS PINTO

INOVAÇÃO TECNOLÓGICA NA FABRICAÇÃO DE CERVEJA FUNCIONAL:
INCORPORAÇÃO DA RUTINA DE FAVA D'ANTA (*Dimorphandra gardneriana Tulasne*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Tecnologia de Produtos de Origem Vegetal.

Aprovado em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Dorasílvia Ferreira Pontes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Maria Nilka de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dra. Gerka Castello Branco Chinelate
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Prof^ª. Dra. Stella Regina Arcanjo Medeiros
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

A Deus.

Aos meus pais, Leivilene e Hermes.

Aos meus irmãos, Lucas e Luís.

AGRADECIMENTOS

À Deus, o dono de toda honra e toda a glória, agradeço por me motivar, proporcionar sabedoria, força e alegria para nunca desanimar frente aos percalços na realização desse projeto.

Aos meus amados pais, Hermes Domingos e Leivilene Freitas, pelo amor, carinho, dedicação, paciência, coragem e por estarem ao meu lado sempre, em todas as situações mesmo que em pensamento com seus conselhos e exemplos. Aos meus Irmãos Lucas Italo, Luís Eduardo e Lailson Flor, pela paciência, amizade e compreensão da minha ausência nesse período. Obrigado!

Aos meus avós Marlene e Luís Flor e meus tios mentores Lindegilson e Lindemilton, pelas palavras de carinho, apoio e oportunidades que me proporcionaram ao longo desta vida.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Tecnologia de Alimento e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, onde passei bons momentos e com certeza terei belas histórias para contar.

Ao Parque de Desenvolvimento Tecnológico do Ceará – Padetec, pela parceria e desenvolvimento do projeto.

Ao IFMA Campus Codó, pelo apoio durante a realização deste projeto.

Ao IFPI Campus Teresina Central, pela oportunidade de crescimento e disponibilidade de utilização dos laboratórios.

A Profa. Dra. Dorasílvio Ferreira Pontes, pela disponibilidade de orientação, por sempre está comigo, sempre oferecer uma solução e está disposta a ajudar. Pelos ensinamentos repassados, amizade e companheirismo ao longo desta jornada.

Ao Prof. Dr. Afrânio de Aragão Craveiro, por me confiar dar prosseguimento a sua pesquisa, pela atenção, ensinamentos, disponibilidade e amizade.

As Profa. Dra. Gerla Chinelate, Dra. Stella Medeiros e Dra. Nilka Oliveira pelas valiosas contribuições, conselhos e disponibilidade.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial as Dra. Maria do Carmo Passos Rodrigues e Dra. Elizabeth Mary Cunha de Silva, pelos sábios conselhos e puxões de orelha extremamente necessários.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia de Alimentos – DEAL/UFC, Augusto, Rejane, Neuma, Paulo, Luiz Bitu, Pereira, Helena, Sr. Adail, Teresa Silva e Sr. Luiz (*in memoriam*), por sempre acreditarem que o “Menino do Piauí” poderia chegar a esse ponto.

Aos funcionários do Padetec, Roberciana, Luzara, Pacato e Dona Olga, pela ajuda e disponibilidade.

Aos amigos Edilberto, Rafael, Marcos, Leiliane, Luciana, Cristiano, Sarah, Lucas e Romano pelo apoio, companheirismo e amizade.

A todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para este trabalho, o meu muito obrigado!

“Se quiser ir depressa, vá sozinho, se quiser ir longe, vá acompanhado.”

Proverbio Africano

RESUMO

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no mundo. Seu consumo está associado à festividades e comemorações, sendo reconhecida como uma bebida que contém ampla variedade de compostos bioativos, vitaminas e minerais, capazes de promover benefícios quando a sua ingestão é feita de maneira moderada. Os consumidores estão a cada dia a procura de produtos diferenciados e até exclusivos, que podem ser obtidos a partir da formulação de cervejas especiais. No mercado cervejeiro existem produtos que alegam propriedades funcionais e promoção do bem-estar dos consumidores, graças à presença de flavonoides que estão presentes na matéria-prima. O Brasil possui cerca de 22% de todas as espécies vegetais do planeta, e devido a biodiversidade possui diversas plantas e frutos que podem fornecer constituintes bioativos para a formulação de novos produtos. Diante do exposto o objetivo desta pesquisa foi estudar a incorporação do flavonoide rutina, obtido através da Fava d'anta (*Diporphandra gardneriana* Tulasne) no desenvolvimento de cervejas especiais em diferentes pontos do processamento e estudar suas características e estabilidade. A Fava d'anta e a rutina purificada foram caracterizadas pelas técnicas de TG, DRX e MEV/EDS. Neste contexto foram desenvolvidos quatro formulações de cerveja: a RUTBEER Padrão, cerveja witbier padrão; a RUTBEER 001, adicionado fava d'anta em pó, juntamente com lúpulo, durante o processo de fervura; a RUTBEER 002, incorporando rutina durante a fermentação da cerveja; e a RUTBEER 003, incorporando rutina durante a fervura do mosto. Os parâmetros pH, Teor alcoólico, Sólidos Solúveis Totais e Concentração Celular foram acompanhados durante a fermentação das formulações de cerveja. Após as amostras engarrafadas foram caracterizados quanto aos aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais, também foi realizado a determinação de rutina, isoquercetrina e kaempferol. Foi escolhido a melhor formulação de RUTBEER e estudado sua estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial por 90 dias e a estabilidade dos flavonóides presentes na amostra por 180 dias, os resultados foram tratados através de teste de normalidade, ANOVA, Tukey e análise de regressão. A fava d'anta em pó e a rutina purificada obtiveram resultados semelhantes nas análises de DRX, onde foi constatado um valor maior de cristalinidade na rutina, resultados que estão de acordo com os encontrados na TG, maior quantidade de eventos térmicos, e EDS, menor quantidade de substâncias, e observados nas micrografias de cada composto. Durante a fermentação o desenvolvimento da levedura, consumo de açúcar e o aumento do teor alcoólico apresentaram comportamentos dentro dos aceitáveis para a produção cervejeira, sendo que a amostra RUTBEER 003 obteve resultados semelhantes ao

da RUTBEER Padrão. Os parâmetros físico-químicos apresentaram diferença significativa entre os tratamentos estudados, onde as cervejas variaram o teor alcoólico de 4,78 a 6,04 % (v/v), onde as amostras com teores mais baixos foram às preferidas na avaliação dos atributos sensoriais, o teor de açúcares residuais pode ter ajudado nesta aceitação, pois o consumidor brasileiro é caracterizado por apreciar cervejas leves e refrescantes. A acidez das cervejas sofreu uma alteração quando adicionado a fava ou a rutina, mas todas as amostras obtiveram resultados dentro do preconizado pela legislação. Os parâmetros microbiológicos foram estudados para garantir a qualidade do produto e a apresentação aos consumidores por meio de análise sensorial, onde os atributos obtiveram resultados na faixa de aceitação hedônica, com destaque as RUTBEER 001 e 003 que apresentam valores semelhantes à RUTBEER Padrão, e não apresentaram diferença significativa entre si no teste de ordenação-preferência. A presença de flavonóides residuais foi constada nos três tratamentos com incorporação, com rendimentos variando de 20% a 83%, mas apenas a RUTBEER 003 apresentou valores significativos de kaempferol e maiores taxas de isoquercitrina, pelo conjunto de fatores a amostra RUTBEER 003 foi escolhida para realização dos testes de vida de prateleira. Durante os 90 dias foi observado um aumento da acidez total, o teor alcoólico, pH, açúcares residuais se mantiveram estáveis, não foi observado o crescimento microbiano, os atributos sensoriais obtiveram diferença significativa, tendo um leve decréscimo, mas após 90 dias, se mantendo na faixa de “Gostei moderadamente”. Os valores de rutina e isoquercitrina se mantiveram estáveis durante os 180 dias de armazenamento, enquanto o valor de kaempferol teve uma diminuição significativa graças ao seu poder antioxidante. Com os resultados apresentados podemos observar que a incorporação de fava d’anta e rutina purificada pode ser feita em cerveja artesanal, sem prejuízo as características do produto final e dos seus processos tecnológicos. O tratamento com adição de rutina purificada na fervura obteve os melhores índices de incorporação dos flavonóides, e manteve a estabilidade dos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais durante o teste de armazenamento. Com essas características a incorporação de rutina na cerveja se mostra uma alternativa viável para o desenvolvimento de um novo produto, atingindo as expectativas de mercado consumidor que anseia por inovação e funcionalidade.

Palavras-chave: Cerveja. Fava d’anta (*Diporphandra gardneriana* Tulasne). Rutina.

ABSTRACT

Beer is the most consumed alcoholic beverage in the world. Its consumption is associated with festivities and celebrations, being recognized as a drink that contains a variety of bioactive compounds, vitamins and minerals, able to promote benefits when its intake is made in a moderate way. The market is every day looking for different and even unique products, thus arises the field of craft beers. In the brewing market there are some labels that guarantee the functionality and well-being, thanks to the presence of flavonoids that are present in the raw material and the Brazilian biodiversity is full of plants and fruits with this capacity, among them is the routine present in Fava d'anta. Against, the objective of this research was to study the incorporation of flavonoid rutina, obtained through Fava d'anta (*Diporphandra gardneriana* Tulasne), in an artisanal beer at different processing points and to study its characteristics and stability. Fava d'anta and rutin purified were characterized by TG techniques, XRD and SEM / EDS. In the sense were developed fourth beer formulations: the RUTBEER Standard, beer standard witbier; RUTBEER 001, added fava d'anta powder, together with hops, during the boiling process; RUTBEER 002, incorporating rutin during beer fermentation; and RUTBEER 003, incorporating rutin during wort boiling. The pH, Alcohol, Index Refraction and Cell Concentration were monitored during the fermentation of the beer formulations. After the bottled samples were characterized for physico-chemical, microbiological and sensorial aspects, the determination of rutin, isoquercetin and kaempferol. The best formulation of RUTBEER was chosen and its physico-chemical, microbiological and sensorial stability for 90 days and stability of the flavonoids present in the sample for 180 days were evaluated. The results were treated by normality test, ANOVA, Tukey and regression analysis. The powdered fava and rutin obtained similar results in the XRD analyzes, where a higher crystallinity value was found in the routine, results that are in agreement with those found in TG, higher amount of thermal events, and EDS, smaller amount of substances, and observed in the micrographs of each compound. During the fermentation, the development of yeast, sugar consumption and the increase of the alcoholic content presented behaviors within acceptable for brewing, and the sample RUTBEER 003 obtained results similar to the RUTBEER Standard. The physical-chemical parameters presented a significant difference between the treatments studied, where the beers varied the alcohol content from 4.78 to 6.04% (v/v), where the samples with lower levels were preferred in the evaluation of the sensorial attributes, the residual sugars content may have helped in this acceptance, since the Brazilian consumer is characterized by the Standard lager. The

acidity of the beers underwent a change when added fava or rutina, but all the samples obtained results within the recommended by the legislation. Microbiological parameters were studied to ensure product quality and presentation to consumers through sensory analysis, where the attributes obtained results in the range of hedonic acceptance, with highlights RUTBEER 001 and 003 that present values similar to RUTBEER Standard, and did not present significant differences among themselves in the order-preference test. The presence of residual flavonoids was observed in the three treatments with incorporation, with yields varying from 20% to 83%, but only RUTBEER 003 presented significant values of kaempferol and higher rates of isoquercitrin, by the set of factors the sample RUTBEER 003 was chosen for carrying out the shelf life tests. During the 90 days an increase in total acidity, alcohol content, pH, residual sugars remained stable, microbial growth was not observed, sensorial attributes obtained a significant difference, having a slight decrease, but after 90 days, maintaining in the "I liked moderately" range. The values of rutin and isoquercitrin remained stable during the 180 days of storage, while the value of kaempferol had a significant decrease due to its antioxidant power. With the results presented can be seen that the incorporation of fava d'anta and rutin can be made into craftbrewing, subject to the characteristics of the final product and its technological processes. The treatment with addition of rutin in the boil obtained the best rates of incorporation of the flavonoids, and maintained the stability of physical-chemical, microbiological and sensory parameters during the storage test. With these characteristics the incorporation of rutin in beer is a viable alternative for the development of a new product, reaching the expectations of the consumer market that longs for innovation and functionality.

Keywords: Craftbrewing. Rutin. Fava D'anta (*Diporphandra gardneriana* Tulasne).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fruto maduro da fava d’anta.....	20
Figura 2 – Ocorrência da <i>Dimorphanda gardneriana</i> Tulasne no Brasil.....	21
Figura 3 – Estrutura molecular da rutina.....	24
Figura 4 – Crescimento do número de cervejarias no Brasil, entre 2002 e 2017.....	27
Figura 5 – Fluxograma de processamento de cerveja artesanal.....	33
Figura 6 – Coloração de maltes cervejeiros.....	42
Figura 7 – Fluxograma da obtenção dos materiais.....	47
Figura 8 – Fluxograma de processamento da Cerveja com adição de Rutina e Fava d’Anta.....	51
Figura 9 – Programação de tempo e temperatura no processo de mosturação por infusão.....	51
Figura 10 – Teste Sensorial.....	56
Figura 11 – Curva de calibração para Rutina, isoquercitrina e Kaempferol.....	59
Figura 12 – Difratoograma de raios X da Fava D’anta e da Rutina.....	61
Figura 13 – Análise Termogravimétrica e Derivada Termogravimétrica da Fava D’anta....	63
Figura 14 – Análise Termogravimétrica e Derivada Termogravimétrica da Rutina DAB...	63
Figura 15 – Micrografias da estrutura superficial da Fava D’anta.....	66
Figura 16 – Micrografias da estrutura superficial da Rutina DAB.....	66
Figura 17 – Análise da (a) Fava D’anta e da (b) Rutina DAB por meio de análise de espectroscopia de energia dispersiva – EDS.....	66
Figura 18 – Evolução do teor alcoólico durante a fermentação das cervejas com rutina....	67
Figura 19 – Concentração de levedura durante o processo fermentativo.....	68
Figura 20 – Teor de sólidos solúveis totais durante o processo fermentativo.....	70
Figura 21 – Controle do pH durante o processo fermentativo.....	70
Figura 22 – Cervejas com incorporação de fava d’anta e rutina.....	74

Figura 23 – Cerveja com adição de rutina durante o processo de fervura.....	77
Figura 24 – Teste de ordenação-preferência.....	79
Figura 25 – Cromatograma da RUTBEER 001.....	82
Figura 26 – Cromatograma da RUTBEER 002.....	82
Figura 27 – Cromatograma da RUTBEER 003.....	83
Figura 28 – Estabilidade da Rutina durante o tempo de estocagem.....	85
Figura 29 – Estabilidade da Isoquercitrina durante o tempo de estocagem.....	86
Figura 30 – Estabilidade do Kaempferol durante o tempo de estocagem.....	86
Figura 31 – RUTBEER 003 após 90 dias de Armazenamento.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Principais subclasses de flavonóides.....	23
Tabela 2	– Ingredientes utilizados em formulações cervejeiras.....	31
Tabela 3	– Enzimas utilizadas no processo de sacarificação do amido.....	35
Tabela 4	– Composição do grão de cevada e malte.....	41
Tabela 5	– Composição química do lúpulo em flor.....	44
Tabela 6	– Ensaio e variáveis utilizadas.....	50
Tabela 7	– Índice de cristalinidade das amostras pelo método de deconvolução dos picos.....	62
Tabela 8	– Resultado da análise das curvas de TG e DTG da Fava D’anta e da Rutina.....	64
Tabela 9	– Valores médios dos parâmetros físico-químicos nas Cervejas com rutina e teste de tukey.....	73
Tabela 10	– Resultados das análises microbiológicas das cerveja com Rutina e Fava d’anta.....	76
Tabela 11	– Valores médios dos atributos sensoriais das cervejas com Rutina e Fava d’anta.....	78
Tabela 12	– Valores médios de atitude de compra das cervejas com Rutina e Fava d’anta.....	78
Tabela 13	– Resultado do Teste de Ordenação-preferência das cervejas com Rutina e Fava d’anta.....	79
Tabela 14	– Valores médios dos flavonoides identificados por CLAE nas cervejas com Rutina e Fava d’anta.....	80
Tabela 15	– Valores médios dos parâmetros físico-químicos durante o período de estocagem da RUTBEER 003.....	83
Tabela 16	– Valores médios dos flavonóides identificados por CLAE durante a estocagem da RUTBEER 003.....	85

Tabela 17 – Valores médios dos resultados microbiológicos durante a estocagem da RUTBEER 003.....	87
Tabela 18 – Valores médios dos atributos sensoriais durante a estocagem da RUTBEER 003.....	87
Tabela 19 – Valores médios da atitude de compra durante a estocagem da RUTBEER 003.....	88
Tabela 20 – Alterações com compostos bioativos durante o processo de simulação de digestão in vitro da cerveja com rutina proveniente da fava d’anta.....	89
Tabela 21 – Valores médios de biodisponibilidade de compostos bioativos durante o processo de digestão in vitro presentes na cerveja com rutina proveniente da fava da d’anta.....	90
Tabela 22 – Alterações na atividade antioxidante durante a simulação da digestão in vitro da cerveja com rutina proveniente da fava d’anta.....	90

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	Fava D’anta (<i>Dimorphandra gardneriana Tulasne</i>).....	20
2.1.1	<i>Flavonóides da Fava d’anta.....</i>	23
2.2	Cerveja Artesanal	25
2.2.1	<i>Mercado cervejeiro.....</i>	26
2.2.2	<i>Cerveja como alimento funcional.....</i>	30
2.2.3	<i>Processo produtivo artesanal.....</i>	32
2.2.3.1	<i>Moagem do malte</i>	33
2.2.3.2	<i>Mosturação.....</i>	34
2.2.3.3	<i>Filtração.....</i>	36
2.2.3.4	<i>Fervura</i>	36
2.2.3.5	<i>Resfriamento.....</i>	37
2.2.3.6	<i>Fermentação.....</i>	38
2.2.3.7	<i>Maturação.....</i>	38
2.2.3.8	<i>Envase</i>	39
2.2.3.9	<i>Pasteurização.....</i>	39
2.2.4	<i>Ingredientes do processo cervejeiro.....</i>	39
2.2.4.1	<i>Água</i>	39
2.2.4.2	<i>Malte</i>	40
2.2.4.3	<i>Lúpulo</i>	42
2.2.4.4	<i>Levedura.....</i>	44
2.2.4.5	<i>Adjunto.....</i>	45
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
3.1	Obtenção e caracterização física de fava d’anta e rutina purificada.....	46
3.1.1	<i>Caracterização dos materiais.....</i>	48
3.1.1.1	<i>Termogravimetria (TG e DTG)</i>	48
3.1.1.2	<i>Difração de Raios X (DRX)</i>	48
3.1.1.3	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Espectrometria por energia dispersiva (EDS).....</i>	49
3.2	Planejamento Experimental.....	49

3.2.1	<i>Testes preliminares</i>	49
3.2.2	<i>Formulação da Cerveja</i>	50
3.3	Acompanhamento da Fermentação	52
3.4	Análises físico-químicas e químicas da cerveja	53
3.4.1	<i>Teor Alcoólico (v/v)</i>	53
3.4.2	<i>Extrato real</i>	53
3.4.3	<i>Extrato Aparente</i>	53
3.4.4	<i>Extrato primitivo ou original</i>	54
3.4.5	<i>pH</i>	54
3.4.6	<i>Acidez Total</i>	54
3.4.7	<i>Acidez Volátil</i>	54
3.4.8	<i>Cor</i>	54
3.4.9	<i>Sólidos Solúveis Totais</i>	55
3.4.10	<i>Açúcares Totais</i>	55
3.5	Análises Microbiológicas	55
3.6	Análise Sensorial	55
3.7	Análise de compostos bioativos e biodisponibilidade na Cerveja	57
3.7.1	<i>Simulação in vitro da digestão gastrointestinal</i>	57
3.7.2	<i>Determinação de compostos bioativos</i>	57
3.7.3	<i>Avaliação da atividade antioxidante in vitro</i>	57
3.7.4	<i>Determinação de Rutina, Quercetina e Kaempferol por cromatografia líquida de alta eficiência - CLAE</i>	58
3.7.5	<i>Avaliação do índice de bioacessibilidade dos compostos antioxidantes</i>	59
3.8	Estabilidade da cerveja	59
3.9	Avaliação Estatística	60
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4.1	Obtenção e caracterização física de fava d'anta e rutina purificada	61
4.1.1	<i>Difração de raios X</i>	61
4.1.2	<i>Análise Termogravimétrica (TG)</i>	62
4.1.3	<i>Microscopia eletrônica de varredura e análise de espectrometria por energia dispersiva</i>	65
4.2	Acompanhamento da fermentação de cervejas especiais com fava d'anta ..	67
4.3	Desenvolvimento de cervejas especiais com rutina e fava d'anta	71

4.4	Estabilidade de cerveja artesanal com rutina proveniente de fava d'anta...	83
4.5	Compostos bioativos, biodiponibilidade e atividade antioxidante da Cerveja com rutina proveniente da fava d'anta.....	89
5	CONCLUSÃO	91
	REFERÊNCIAS	92
	APÊNDICE A – CERTIFICADO DE ANÁLISE RUTINA DAB.....	103
	APÊNDICE B – CROMATOGRAMA DA RUTINA PADRÃO DAB.....	104
	APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO.....	105
	APÊNDICE D – FICHA SENSORIAL.....	106
	APÊNDICE E – CROMATROGRAMA DA CERVEJA – RUTBEER 003..	107

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no mundo, sendo elaborada a partir da sacarificação e fermentação de malte de cevada, adicionado de lúpulo e água. O mercado cervejeiro mundial é dominado por indústrias tradicionais, que trabalham com foco na produção em massa, todavia tendências atuais apontam para o desenvolvimento de produtos inovadores, reinventando a forma como a cerveja é apresentada aos consumidores, resultando em bebidas com características ímpares, que oferecem uma gama de cores, sabores e benefícios a quem consome o produto regularmente (AQUILANE *et al.*, 2015; HINDY, 2015).

Estudos recentes têm comprovado que o consumo moderado de cerveja pode conferir benefícios ao sistema imune, elevar a concentração sérica da fração de colesterol HDL – c (lipoproteína de alta densidade, o colesterol “bom”), além de promover o aumento da taxa de antioxidantes no corpo, contribuindo potencialmente para a prevenção de doenças cardiovasculares (DUCRUET *et al.*, 2017).

Quanto à sua composição, a cerveja apresenta elevados teores de carboidratos, aminoácidos, minerais, vitaminas e compostos fenólicos, estes últimos em sua maioria dos tem sua origem no malte e além de sua atividade biológica, notadamente suas ações como antioxidantes, contribuem para a cor, corpo e estabilidade da bebida (LEITÃO *et al.*, 2011).

O enriquecimento de cervejas com nutrientes e compostos bioativos, provenientes de frutas e vegetais, acrescenta novos sabores e aromas, conferindo estabilidade à bebida, bem como alegação de propriedades funcionais, sendo essa prática comum em diversos países e a partir da qual, resultam algumas das melhores cervejas do mundo, a exemplo das Lambic’s Belgas (DAENEN, *et al.* 2008; DONADINI e PORRETTA, 2017).

No mercado cervejeiro atual, existem diversos rótulos de cervejas que revelam a presença de rutina proveniente do trigo serraceno (*Fagopyrum esculentum*), todavia, uma alternativa para a produção deste tipo de bebida adaptada à realidade da biodiversidade da flora brasileira, é a utilização da Fava d’anta (*Diporphandra gardneriana*) como fonte de rutina, considerando-se que seu fruto apresenta um teor de 8% deste componente (BRECHO, 2009).

A espécie *Dimorphandra gardneriana* Tulasne, tem relevância funcional, considerando-se que seus frutos são ricos nos flavonoides rutina, quercetina e isoquercitrina, dos quais, a rutina é utilizada como princípio ativo na elaboração de medicamentos relacionados à prevenção e ou tratamento de doenças do aparelho cardiovascular, dessa

forma, o cultivo desta espécie desempenha um importante papel na economia de comunidades extrativistas, que podem atuar como fornecedores de matérias-primas para a indústria farmacêutica, destacando-se no Estado do Ceará a região do Vale do Araripe (SILVA *et al.*, 2012).

O sistema de coleta do fruto do faveiro iniciou-se na década de 70 no Brasil, sendo esta matéria-prima explorada devido à quantidade de flavonóides presentes, que são encontrados em concentrações que perfazem cerca de 10% do peso de seu mesocarpo. A rutina é o principal composto obtido da fava e também o mais exportado, em 2015, era o 8º produto com ação farmacológica mais vendido pelo Brasil no mercado externo, sendo que 95% da produção vêm das espécies de *Dimorphandra gardneriana* e *Dimorphandra mollis* conhecidas popularmente como fava d'anta e barbatimão falso, respectivamente (HUBINGER *et al.*, 2009; GOMES, 2000; EUQUERES, 2009; ABIQUIF, 2018).

A rutina é um flavonóide do gênero das flavonas, com elevada atividade biológica favorecendo a absorção de vitamina C pelo organismo, inibindo a formação de radicais livres, além destas funções, atua como adjuvante no controle da hipertensão arterial, aumenta a resistência dos vasos capilares, prevenindo a inflamação das veias hemorroidárias e desenvolvimento de varizes, sendo também atribuída a este flavonóide atividade antimicrobiana (TAPAS *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009; SANDHAR *et al.*, 2011).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi estudar a incorporação do flavonoide rutina, obtido da Fava d'anta (*Diporphandra gardneriana* Tulasne), em cervejas especiais e caracterizar o produto, quanto à sua viabilidade de comercialização, face às alterações promovidas pela incorporação deste componente em suas características tecnológicas e sensoriais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fava D'anta (*Dimorphandra gardneriana* Tulasne)

A espécie *Dimorphandra gardneriana* Tulasne é conhecida como fava d'anta ou faveiro, é uma árvore brasileira leguminosa nativa, ocorrendo naturalmente nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia, Para, Goiás, Matogrosso e Minas Gerais (MONTANO *et al.*, 2007).

No estado do Ceará, Costa *et al.* (2007) registrou sua ocorrência na Unidade de Conservação Floresta Nacional do Araripe (CE), onde o extrativismo é a principal forma de exploração do fruto da faveira (Figura 1).

De acordo com Corrêa (1984) é uma árvore de pequeno porte, comumente encontradas no cerrado, seus frutos se caracterizam pela forma de vagens com comprimento de até 15 cm, apresentam mesocarpo farináceo de sabor adocicado, onde são encontrados glicosídeos flavônicos, principalmente a rutina em teores que podem perfazer cerca de 10% do seu peso total do fruto seco.

Considerado por muitos a “benção do Cariri”, esse fruto possui elevados teores de compostos bioativos e além de rutina, são encontrados também em concentrações menores, os flavonóides quercitina e kaempferol (CRAVEIRO, 2014; HUBINGER *et al.*, 2009).

Figura 1 – Fruto maduro da fava d'anta.

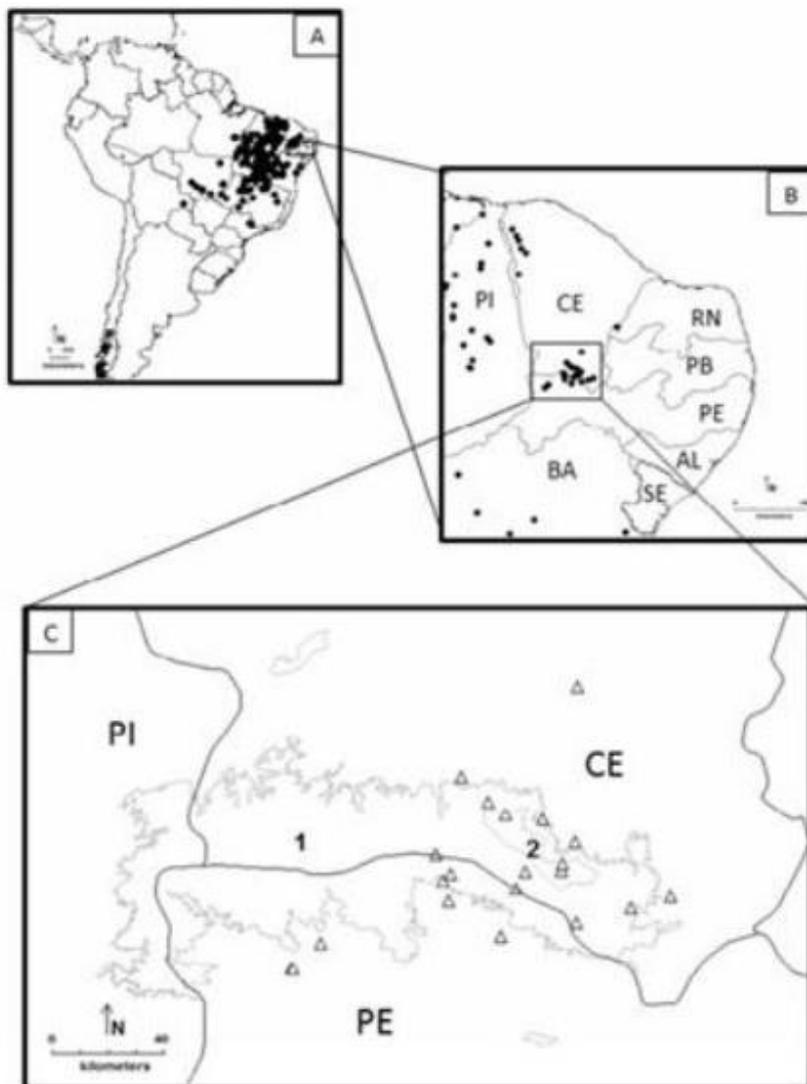


Fonte: Autor, 2019.

Segundo a Filizola (2013) as faveiras são exploradas há anos no Cerrado brasileiro, onde os extrativistas costumam vender o fruto sem nenhum beneficiamento. A extração dos flavonóides é feita por empresas do ramo farmacêutico, ficando com considerável parcela do lucro agregado do produto.

Na Figura 2 é apresentada a ocorrência de *Dimorphanda gardneriana* Tulasne no Brasil, mostrando a importância ecológica e cultural da espécie para o sertão nordestino.

Figura 2 – Ocorrência da *Dimorphanda gardneriana* Tulasne no Brasil.



Legenda: A: Ocorrência da *Dimorphanda gardneriana* Tulasne no Brasil; B: Visão ampliada da distribuição ao sul do estado de Ceará; C: Localização geográfica das principais unidades de conservação onde há ocorrência de *Dimorphanda gardneriana*; 1: Área de Preservação Ambiental do Araripe; 2: Floresta Nacional do Araripe-Apodi.
Fonte: Matos (2015).

Conforme citado anteriormente, por apresentarem elevadas concentrações dos flavonóides rutina, quercetina, isoquercitrina, os frutos da faveira são utilizados como matérias-primas para obtenção destes compostos, que são utilizados na elaboração de medicamentos para tratamento de doenças circulatórias, desempenhando papel crucial na economia de comunidades extrativistas onde são coletados e comercializados com empresas farmacêuticas. A faveira é também usada como planta ornamental, devido ao belíssimo aspecto da árvore principalmente quando em período de floração, sendo recomendada para arborização pública, em áreas alteradas nos cerrados, por ser uma planta pioneira em seu ambiente nativo e para plantios destinados ao fornecimento de matérias-primas às indústrias que utilizam os seus frutos para extração de flavonóides destinados a fabricação de medicamentos (ALCÂNTARA, 2017).

A rutina e a quercetina estão entre os dez produtos com ação farmacológica mais exportados pelo Brasil. Os frutos da fava d'anta são coletados por inteiro, incluindo-se as sementes, embora a rutina e demais compostos químicos de interesse industrial se localizam no mesocarpo do fruto. A coleta geralmente é feita por comunidades extrativistas (ABIQUIF, 2018; EUQUERES, 2009; ALCÂNTARA, 2017).

O desenvolvimento de tecnologias para purificação e extração dos flavonóides da Fava d'anta, vem sendo estudado por pesquisadores nacionais, e a agregação dessa matéria-prima em produtos alimentícios, é uma forma de agregar mais valor, além de garantir características funcionais ao alimento ao qual ela for incorporada.

Santos *et al.*, (2006) caracterizou as classes químicas no extrato etanólico dos frutos do faveiro, observando o aparecimento e a intensificação de cores diversas, indicando a presença de várias subclasses de flavonóides, o destaque ficou com a cor vermelha, que é indicativo da presença de flavonóis, flavanonas e flavononóis.

Alcântara (2017) estudou a quantidade de flavonoides em *Dimorphandra Gardneriana* Tulasne em diferentes áreas de manejo, com diferentes extratos, encontrando valores que variaram de 6% a 12% de rutina no mesocarpo dos frutos, encontrando nos extratos etanólicos e hidroalcoólicos seus maiores resultados. Isso acontece devido à capacidade de absorção do álcool, garantindo assim maiores concentrações de flavonoides liberados em soluções que possuem etanol como solvente (TÓMAS-BARBERAN, ESPÍN, 2001).

Os flavonóides (rutina, quercetina e isoquercitrina), presentes na fava d'anta, protegem a planta de danos causados pela fotoxidação, a poluição ambiental, insetos, fungos, vírus e bactéria (SOUSA-JUNIOR *et al.*, 2016).

2.1.1 Flavonóides da Fava d'anta

Em 1930, uma nova substância foi isolada de laranjas, foi classificada a princípio como uma vitamina – vitamina P, porém estudos posteriores demonstraram se tratar de um flavonoide, a Rutina (NIJVELT *et al.*, 2001). Desde então há uma intensa tentativa em isolar e estudar este e outros flavonóides (MACHADO, 2005).

O consumo de flavonóides pode prevenir a disfunção endotelial através de um processo de vasorelaxamento que leva à diminuição da pressão arterial. Vários flavonóides como a rutina, quercetina, miricetina e Kaempferol foram objetos de estudo por suas propriedades em inibir a agregação plaquetária. Por outro lado, verificou-se que compostos como flavonóis são particularmente anti-trombóticos devido a sua capacidade de neutralizar os radicais livres e manter uma concentração de prostaciclina e óxido nítrico apropriadas (TAPAS *et al.*,2008).

Os flavonóides estão entre os mais importantes grupos de compostos bioativos encontrados no reino vegetal. Mais de 4.000 deles já foram identificados em fontes vegetais, sendo suas maiores classes os flavonóis, flavonas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavona, diidroflavonois, e chalconas (YAO *et al.*, 2004).

Tabela 1 – Principais subclasses de flavonóides.

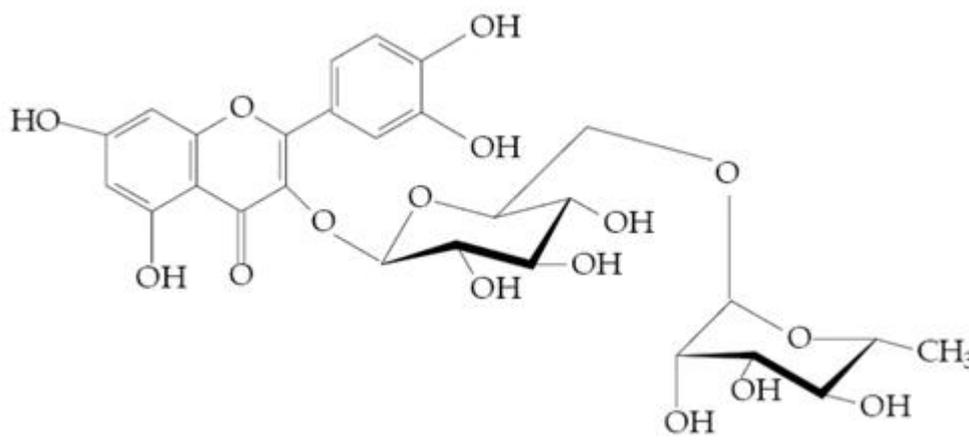
<i>Sub-classes</i>	<i>Cor</i>	<i>Flavonoides representativos</i>	<i>Fontes alimentares</i>
Antocianidina	Azul, vermelho e violeta	Cianidina	Macãs, chá, cerveja, sucos de uva e vinho
Flavanol	Incolor e amarelo	Catequinas, epicatequinas, procianidina	Frutas cítricas
Flavanona	Incolor e amarelo	Hisperidina, Naringenina	Cereais, frutas
Flavona	Amarelo claro	Apigenina, Luteolina	Flores e vegetais
Flavonol	Amarelo claro	Miricetina, quercetina e rutina	Cebolas, macãs, chá, tomates, trigo sarraceno, fava d'anta
Isoflavona	Incolor	Genisteína, Diizeína	Legumes (derivados da soja)

Fonte: BRECHO (2009)

A rutina (3- σ -rutinosideo-quercetina), quando purificada se apresenta na forma de um pó amarelo-esverdeado, é caracterizada como um composto polifenólico amplamente distribuído em diversas espécies vegetais. É um flavonol glicosídico pertencente à classe de flavonóides. Apresentando propriedades importantes para a saúde humana, com destaque para sua atividade antioxidante. Além de possui outras atividade farmacológica comprovadas, como ações antialérgica, anti-inflamatória, anti-hepatotóxica, anti-hipertensiva e vasoativa, além atuar na prevenção de danos causados pelos agentes oxidantes (CHUA, 2013; PEDRIALLI, 2005; PINTO, 2014).

Sendo que esse flavonóide que tem sido intensamente pesquisada e os resultados estão interessando constantemente das indústrias farmacêuticas e de alimentos. A estrutura dos flavonóides está baseada em um núcleo que consiste de três anéis fenólicos e a rutina tem ligados a esta estrutura básica os açúcares glicose e raminose, conforme apresentado na figura 3.

Figura 3 – Estrutura molecular da rutina.



Fonte: Pedrialli, 2005.

Segundo Brecho (2009) as principais fontes de rutina são:

- A árvore japonesa pagoda – *Sophora japonica* L, *fabaceae*: uma árvore encontrada no norte e centro da China e de seus botões e flores são extraídos de 15 a 20% de rutina (PEDRIALLI, 2005).
- Trigo sarraceno – *Faopyrum esculentum* Moech, *F. tataricum* (L.) Gaenth., Polygonaceae: é um pseudocereal de origem chinesa, cultivado na Europa, suas folhas contem 2-8% de rutina (COUCH *et al.*, 1946).
- Frutos (favas) do faveiro – *Dimorphandra mollis* e *Dimorphandra gardneriana* contem rutina na proporção de 8g para 100g de pericarpo (CHAVES, 2003). É uma espécie

arbórea nativa do Brasil, encontrada em regiões de cerrado nos estados do Para, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul e na Caatinga Nordestina (CHAVES, 2003).

Chua (2013) adiciona a essa lista as espécies *Maranta leuconeura* E. Morren (Marantaceae), *Orchidantha maxillarioides* (Ridl) Schum (Lowiaceae), *Eucalyptus* spp. (Mytaceae), *Canna indica* L. (Cannaceae), *Canna edulis ker Gawl.* (Cannaceae) e *Labisia pumila* (Blume) Mez (Primulaceae).

Patrak *et al.*, (1991) elucidada que a rutina associada ao ácido ascórbico, facilita a absorção de ambos. Além de serem fatores associados ao tratamento de algumas doenças hemorrágicas ou de hipertensão, pois sugere que a rutina ajuda a normalizar a resistência e a permeabilidade da parede de vasos sanguíneos. Melhorando sintomas como perda da acuidade visual e alterações no campo visual.

Segundo Landim (2012) a rutina reduz a concentração da fração LDL – c (lipoproteína de baixa densidade, o colesterol “ruim”), atua no fortalecimento da estrutura da parede de vasos sanguíneos; sendo usada no tratamento de pequenas varizes e celulites. É empregada ainda para o preparo de cirurgias em pacientes afetados com icterícia, pois exerce uma influência benéfica sobre as hemorragias no tratamento profilático de trombose.

Valores como 50-100mg de rutina já garantem essa funcionalidade, vale ressaltar que, ela é solúvel em elevadas temperaturas, ou em solventes como metanol e soluções hidroalcoólicas, justificando seu emprego na formulação de cervejas especiais.

2.2 Cerveja Artesanal

O processo cervejeiro está presente na alimentação humana, desde a formação de antigos povos como os sumérios, babilônicos e assírios, pois estas civilizações utilizavam os cereais como base de sua alimentação desde 8000 a.C. Segundo SINDCERV (2017), a cerveja é uma bebida com uma grande aceitação popular, e seu consumo tornou-se um fator cultural, além de promover benefícios à saúde quando consumida moderadamente, é uma bebida saborosa, nutritiva e com uma diversidade de formas e apresentações que a ajudam a ser a bebida alcoólica mais difundidas no mundo. Já no Brasil as preferidas são as mais claras e leves.

A família real portuguesa, trouxe a cultura cervejeira para o Brasil em 1808, à época existiam duas opções de bebida, a “Gengibirra” feita de farinha de milho, gengibre, casca de limão e água, e a “Caramuru” feita de milho, gengibre, açúcar mascavo e água

(SANTOS, 2008). Posteriormente houve uma evolução no processo cervejeiro e nos dias atuais a ciência cervejeira é objeto de estudo multidisciplinar, envolvendo áreas da engenharia, bioquímica e microbiologia (BAMFORTH, 2009).

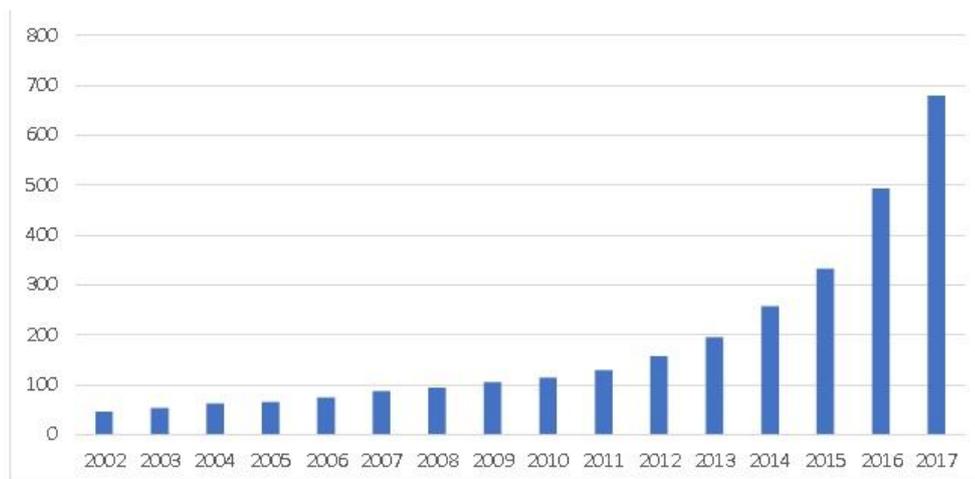
2.2.1 Mercado cervejeiro

Em 2017, o número de cervejarias cresceu cerca de 500% se comparado a última década, totalizando 8903 rótulos registrados nos órgãos fiscalizadores no Brasil. Podemos caracterizar esse mercado em duas categorias: Grandes empresas, multinacionais, líderes de mercado, dominando o segmento *mainstream*, que são cervejas populares visando vendas em volumes e atuam em todo o território; e pequenas empresas, microcervejarias, que procuram preencher um nicho de mercado com cervejas de maior variedade e sabores, atuando sempre em mercados regionais (MARCUSO, MULLER, 2018; HINDY, 2015).

Os dois segmentos possuem importância ímpar para o país, pois enquanto por um lado as grandes empresas mostram força comercial, prestando um serviço de distribuição neste país de magnitudes continentais, enquanto as pequenas empresas garantem uma diversidade de mercado, aquecendo mercados regionais, entre outros.

O mercado cervejeiro contribui com 2% do PIB do Brasil, elevando as finanças de diversos municípios brasileiros, que vão desde a produção da cevada, maltaria até a instalação e manutenção das zonas fabris, os centros de distribuição e toda rede que forma esse importante segmento do mercado nacional, gerando uma arrecadação de 21 bilhões em impostos e 2,7 milhões de empregos diretos e indiretos (SINDCERV, 2017).

Alguns fatores que levaram ao crescimento do setor é o surgimento de diversas cervejarias com a denominação artesanal, criadas para satisfazer um mercado cada vez mais exigente quando no que diz respeito à diversidade de sabores, gostos, aromas do produto. O gráfico da figura 4 apresenta o crescimento do número de estabelecimentos (cervejarias) no Brasil, entre os anos de 2002 a 2017, sendo evidente a elevação da quantidade de plantas de processamento cervejeiro licenciadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Figura 4 – Crescimento do número de cervejarias no Brasil, entre 2002 e 2017.

Fonte: MARCUSSO e MULLER (2018)

No Brasil as microcervejarias “modernas” ou microcervejarias artesanais surgiram na década de 1980, com um movimento similar ao dos Estados Unidos na década passada, com cervejarias de pequeno porte surgindo sob a forma de pequenas indústrias ou pubs que elaboravam seus próprios produtos. A primeira microcervejaria moderna brasileira foi a Bavarium Park, fundada em 1984, no município de Curitiba - PR. Posteriormente veio a cervejaria Scott Ashby, fundada em 1993 em São Paulo. Em seguida surgiram outras empresas como a Eisenbahn e a OPA Bier em Santa Catarina, Baden e Colorado de São Paulo e no nordeste temos a Draft Bier no estado do Ceará (MATOS, 2012).

Segundo Kalnin (1999), esse setor vem se consolidando como um segmento de mercado protegido, pois a intenção destes tipos de estabelecimentos não é concorrer diretamente com as poderosas líderes que conseguem trabalhar com preços muito baixos, mas sim, atingir um tipo de consumidor diferente, que se importa com características sensoriais específicas da cerveja: cor, sabor, aroma, teor alcoólico, amargor, sabor residual, dentre outros.

Em 2006 havia cerca de 60 microcervejarias no Brasil, e em 2014, já existiam 206, o que representa um considerável aumento do setor em menos de uma década. Outro ponto que merece destaque é que enquanto as grandes indústrias crescem em torno de 6% ao ano, as microcervejarias crescem 14%, esse fenômeno está sendo apelidado de “Revolução das Cervejas Artesanais” na mídia, e esses indicativos demonstram um mercado atraente em franca expansão que pode e deve ser mais bem explorado (ERTHAL, 2006; SINDCERV, 2017).

Em países como os Estados Unidos, em 2006, o mercado de microcervejarias

representava 2,7% de todo mercado de cerveja do país, onde atuam cerca de 1500 indústrias, contabilizando 3,3 bilhões de dólares. Assim, como nos EUA, na Europa as microcervejarias já têm um setor consolidado, com diversos estabelecimentos produzindo, servindo ou comercializado o próprio chope ou cerveja (ERTHAL, 2006).

Isso mostra como o setor de cervejas especiais tem um grande potencial de crescimento no mercado brasileiro, pois os estados da Federação estão propícios aos investimentos em *craftbrewing*, onde se pode observar tanto a presença de microcervejarias, quanto a tradição de organizarem eventos e reuniões, como festivais, degustações, sindicatos, associações, entre outros.

Bezzi (2009) relata que parte do sucesso das microcervejarias no Brasil se deve ao aumento do poder de consumo da classe C, que se dá ao luxo de comprar produtos com uma qualidade superior, bem como à conscientização das classes A e B, que hoje já estão mais abertas às novidades, entendendo que a cerveja pode ser uma bebida tão diversificada e fina quanto o vinho, considerando-se que a mesma possui no mínimo equivalência sob a ótica nutricional no combate a doenças cardiovasculares (WRIGHT, 2008).

As microcervejarias utilizam um *marketing share* diferenciado para atrair seus consumidores, em contrapartida aos preços elevados de seus produtos, por exemplo, usar ingredientes tipicamente regionais, dar ênfase aos benefícios do produto, como os dá saúde, fazem alusão a primeira lei de processamento de alimentos (lei alemã de pureza de 1516 *Reinheitsgebot*), venda de cervejas “vivas” para os produtos não submetidos ao processo de pasteurização, referindo-se às leveduras presentes no produto e uso inúmeros tipos de maltes, lúpulos e adjuntos, dentre outros (MATOS, 2012).

Para garantir qualidade as microcervejarias precisam oferecer produtos com matéria-prima de alto padrão de qualidade, o que eleva seus preços a uma faixa acima dos líderes de mercado, que utilizam adjuntos cervejeiros mais baratos, buscando baixar o custo de produção.

Sleiman *et al.*, (2010) constaram que das 161 amostras de cervejas avaliadas em seu trabalho, 95,6% utilizavam malte e adjunto cervejeiro, onde 91,3% utilizaram adjunto de milho ou cana, 4,3% apresentaram adjuntos de arroz e apenas 4,3% foram declaradas de “puro malte”. Os resultados do estudo mostram que os adjuntos cervejeiros estão presentes nas cervejas oriundas das maiores empresas cervejeiras do país, e fazem parte da estratégia de mercado, enquanto as microcervejarias, por sua vez, adotam outra estratégia no desenvolvimento de seus produtos.

Os consumidores apresentam maior tendência ao uso de alimentos considerados

saudáveis, ocorrendo um aumento no consumo de bebidas à base de frutas e de extratos vegetais. As microcervejarias estão atentas para esse fato e buscam novos tipos de bebidas, sabores, nichos de mercado, além de melhorar a sua qualidade e popularizar seu consumo (BEZZI, 2009).

Cooper (2013) afirma que o desenvolvimento de produtos é de vital importância para a sobrevivência e o crescimento da maioria das empresas. Devido a fatores como desenvolvimento tecnológico, crescimento da concorrência externa, licenciamento de marcas importadas, competitividade do setor e exigência do consumidor, que apresenta novos valores de preferência, notando, por tanto um constante desenvolvimento e lançamento de produtos, acompanhando ao aumento da exigência do consumidor aumentou ao escolher entre os itens e marcas à sua disposição.

A demanda de desenvolvimento de novos produtos, o grau de exigência dos consumidores, a necessidade de estudos e pesquisas que apontem alternativas para o aproveitamento de matérias-primas regionais, com intuito de aumentar a economia regional e minimizar a distância e acesso a informação, são fatos que constata a relevância do estudo.

O Beer Judge Certification – BJCP e o Brewers Association – BA são os principais guias de estilos de cerveja conhecidos no mundo, classificando as cervejas em sub-estilos, escolas cervejeiras, atributos sensoriais, dentre outros. Atualmente existem quatro escolas cervejeiras: a Alemã, a Belga, a Inglesa e a Americana, a produção artesanal brasileira preza pela diversidade, reunindo influências destas quatro escolas (OLIVER, 2012).

Oliver (2012) caracteriza a Witbier como um estilo de cerveja belga fabricada com malte de cevada e trigo, e condimentada com coentro e casca de laranja. Algumas variações podem incluir aveia, limão siciliano, gengibre e pimenta. A Witbier possui um tom dourado pálido, coroado por um colarinho branco firme, formado por proteínas do trigo e alta carbonatação. Seu aroma e seu sabor são agradavelmente críticos, sendo uma cerveja muito refrescante, possuindo uma combinação entre o adocicado da laranja com uma acidez refinada e seca.

O estilo belga, especialmente a Witbier combinam com o verão brasileiro, sendo uma cerveja com sabor frutado agradável e refrescante. Cada vez mais cervejarias do país estão produzindo suas versões. Outra saída do estilo é ser uma opção para quem não está muito acostumado com variedades mais fortes e encorpados de cerveja, ou para aqueles que estão iniciando o consumo de cervejas artesanais (HINDY, 2015).

São vários os rótulos no mercado internacional de cervejas que buscam a alegação funcional justamente pela presença de compostos flavonóis provenientes de fontes naturais

como o trigo serraceno, frutas vermelhas, goji berries.

Por que não utilizar matérias-primas regionais para garantir essa mesma funcionalidade em cervejas artesanais nacionais, logo surgiu a necessidade de se estudar fontes de flavonóis como o fruto da faveira e conseguir extrair esses compostos garantindo assim uma funcionalidade à cerveja.

2.2.2 Cerveja como alimento funcional

A cerveja é produto elaborado a partir de matérias-primas naturais que pode apresentar diversos aspectos benéficos a saúde. Na sua composição possui uma ampla gama de carboidratos de cadeias ramificadas, que não são digeridos e funcionam como fibras solúveis, além de aminoácidos essenciais e antioxidantes. O lúpulo ainda transfere para a cerveja vitaminas, polifenóis, flavonóides e a lupulina, aumentando ainda mais os benefícios desse produto (BAMFORTH, 2009).

Diversos estudos demonstraram que o consumo moderado de bebida alcoólica é benéfico à saúde, sendo que o álcool atua como agente oxidante, reduz o colesterol HDL e colabora com a circulação sanguínea, justificando seu efeito na redução do risco de doenças cardiovasculares (LINDBERG e AMSTERDAM, 2008; DIAZ *et al.*, 2008; GRANATO *et al.*, 2011; KLATSKY, 1999).

A matriz cervejeira é hidroalcoólica, alguns componentes são potencializados nessa matriz, como os polifenóis e flavonóides, que também podem auxiliar na prevenção de doenças coronárias (BOOYSE *et al.*, 2007).

Alimentos funcionais têm entre suas características fazer parte da dieta humana, diminuir o risco de doenças crônicas e proporcionar benefícios a saúde. Eles devem ter uma característica inovadora e não ter característica de medicamento. Segundo Cukalovic *et al* (2010), a cerveja está entre os exemplos de produtos que podem funcionar como matriz para o desenvolvimento de bebidas funcionais e produtos com atividade farmacodinâmica específica.

No Brasil inúmeras espécies são utilizadas na forma de chá para o tratamento de enfermidades e também como forma de se obter algum extrato com propriedade funcional. Existe alguns ingredientes cervejeiros que são utilizados no Brasil na forma de infusões e chá. Alguns deles descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Ingredientes utilizados em formulações cervejeiras.

<i>Ingrediente</i>	<i>Estilo de cerveja</i>
Gengibre	Winter ale / Farm house Ale / Pumpkin Ale
Canela	Winter ale / Farm house Ale / Pumpkin Ale
Coentro	Witbier
Casca de Laranja	Witbier
Café	Stout/Porter
Cacau / Chocolate	Stout / Imperial Stout / Porter

Fonte: MONTEIRO (2016).

A semente de coentro possui um aroma refrescante e sabor marcante sendo largamente utilizada na forma seca, mascarando odores resultantes de processos envolvendo calor. Ela possui atividades antimicrobiana, antioxidativa, hipoglicemiante entre outras. Sua atividade antioxidativa é devido a compostos bioativos presentes na semente. Além disso os ácidos graxos têm se mostrado efetivos para reduzir o nível de colesterol no sangue (SAKURAI *et al.*, 2016).

A casca da laranja é rica em flavonoides e diversos metabólitos secundários, responsáveis por sua proteção contra fatores bióticos e abióticos, como terpenoides, carotenoides, cumarinas, furanocumarinas, garantindo assim uma alta atividade antioxidante, além garantir sabores e aromas cítricos, ácidos e amargos (AHMAD *et al.*, 2006, GERHARDT *et al.*, 2012).

Já existem produtos que aproveitam a biodiversidade brasileira: por exemplo a cervejaria Amazon Beer que inovou ao usar frutas e especiarias típicas da região em diferentes formulações de cervejas, como taperebá, priprioca, semente de cupuaçu e bacuri. Uma vez que a escola de cervejarias belgas produz algumas edições limitadas de produtos com jambu, cubeba, iquiriba, puxuri, cumaru-tonka e amburama (MONTEIRO, 2016).

Formulações do estilo Witbier se destacam no grupos do estilo belga, por ser criativo e por combinar o tradicional com o contemporâneo, além de não abandonarem a cultura de adicionar especiarias (MORADO, 2009).

Reitenbach (2010) elaborou uma cerveja Lager, com propriedades funcionais devido à adição de levedura *Saccharomyces boulardii*, onde esses microrganismos são conhecidos por melhorar o estado da microbiota intestinal, o sistema imunológico e a digestão.

Cukalovic *et al* (2010) desenvolveu cervejas *mainstream*, incorporando *Ganoderma Lucidium*, visando melhorando os atributos sensoriais e a quantidade de componentes bioativos.

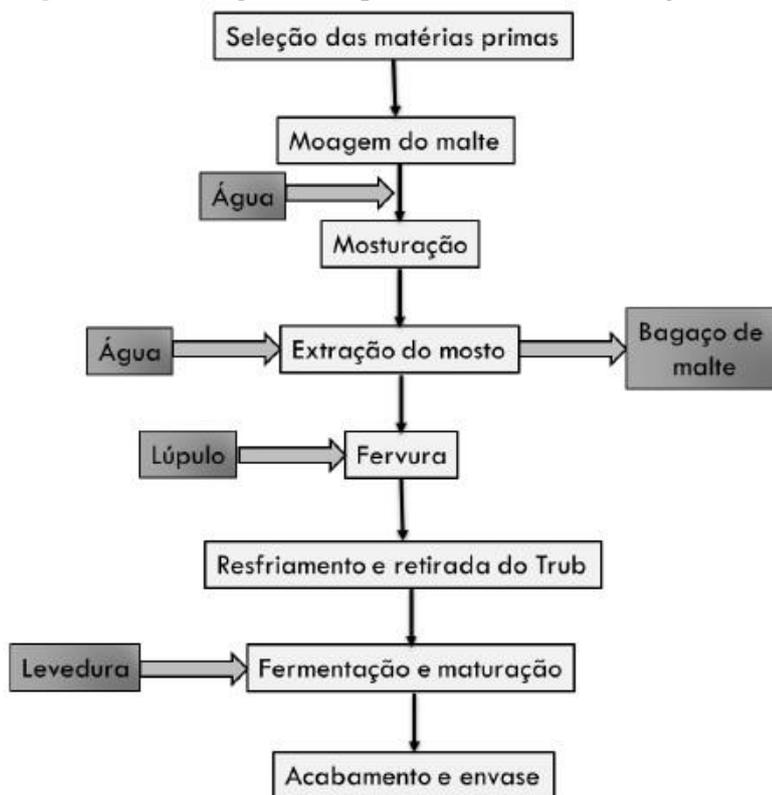
Ducret (2017) desenvolveu uma Amber Ale com goji berries, frutas com propriedades anti-aglutinante, propriedades vasodilatadoras e melhora o sistema autoimune. Granato (2011), Daenen *et al.*, (2008), Bamforth (2006), Asante (2008) elaboraram cervejas com adição de frutas, com o objetivo de melhorar as características sensoriais da cervejas, como também seus compostos bioativos.

A incorporação de adjuntos e matérias-primas busca reacender uma arte milenar, com seus diferentes sabores, aromas e experiências sensoriais. Segundo Donadini (2017), a atração do consumidor por cervejas especiais e funcionais tem se afluído ao longo dos últimos anos, o mercado cervejeiro possibilita harmonizar um estilo de cerveja para cada ocasião e refeição.

2.2.3 Processo produtivo artesanal

A Figura 5 apresenta o fluxograma de processamento de cerveja artesanal, descrito por Deeds (2013), com adaptações. O processo está descrito no decorrer do texto, através de tópicos, onde o mesmo foi utilizado como base neste estudo.

Figura 5 – Fluxograma de processamento de cerveja artesanal.



Fonte: Deeds (2013) com adaptações.

2.2.3.1 Moagem do malte

Nas cervejarias do Brasil, o malte tem sido tradicionalmente moído em moinhos de rolo, martelos e o menos usual, o de disco. Quando se utiliza o moinho de rolo, o malte deve ser apenas esmagado para produzir cascas inteiras e farinha, pois as cascas inteiras do malte moído favorecem a rápida filtração do mosto na tina de filtração, enquanto que o endosperma amiláceo reduzido à granulação de farinha contribui para a máxima conversão do amido em extrato durante a mosturação.

Botelho (2009) descreve um malte bem moído com ausência de grãos inteiros e partículas de endosperma aderidas à casca, com a maioria das cascas rasgadas longitudinalmente, endosperma reduzido a partículas pequenas e com tamanho uniforme e quantidade mínima de farinha fina.

Uma moagem é considerada inadequada quando as cascas se partem e ficam quebradiças reduzindo a velocidade de filtração do mosto e aumenta o teor de polifenóis na cerveja, prejudicando a sua estabilidade coloidal. A produção de farinha fina deve ser baixa, pois ela provoca formação de material mucilaginoso durante o processo de mosturação,

dificultando a filtração (VENTURI FILHO, 2010).

A principal função da moagem é aumentar a área superficial do amido e com isso acelerar as reações enzimáticas. Nesse processo, os grãos de cevada são esmagados com objetivo de romper sua casca longitudinalmente de forma a deixar exposto o amido presente internamente. A fração amilácea é moída, sendo que a uniformidade do grão é um parâmetro bastante importante a ser avaliado. A produção de uma farinha com uma granulometria disforme pode causar a formação de pasta no moinho e causar problemas na filtração do mosto (BORZANI, 2001).

Um malte bem moído deve apresentar características como, ausência de grãos inteiros, maioria das cascas rasgadas longitudinalmente, ausência de partículas de endosperma aderidas às cascas, endosperma reduzido a partículas pequenas e uniformes e quantidade mínima de farinha fina (BAMFORTH, 2005).

2.2.3.2 Mosturação

As matérias-primas cervejeiras são transformadas em mosto nesta etapa, tem como principal objetivo recuperar a maior quantidade possível de extrato, no mosto, a partir do malte ou da mistura de malte e adjuntos (VENTURINI FILHO, 2010).

A mosturação consiste na solubilização dos açúcares, enzimas, íons em temperatura controlada, ativando enzimas específicas que foram viabilizadas na malteação. A tabela 2 mostra a faixa de temperatura ótima para ativação das enzimas. Kunze (2006) afirma que as faixas de mosturação variam de acordo com o tipo de cerveja pretendida. Nesse processo ocorre a geleificação do amido e sua posterior hidrólise enzimática, usando principalmente a α -amilase e β -amilase.

Bamforth (2009) corrobora com a afirmação que a temperatura de mosturação varia conforme o perfil da cerveja, uma vez que existem diversas enzimas no malte, com diferentes funções e temperaturas ideais. Além das enzimas amilolíticas, existem as enzimas que atuam sobre lipídeos e proteínas, entre outras.

O extrato de mosto é constituído por cerca de 10 a 15% de substâncias prontamente solúveis em água, e o restante (85 a 90%) por produtos de degradação de macromoléculas pelas enzimas (amilases, proteases, beta-gluconases, entre outras). As amilases são responsáveis pela hidrólise do amido em açúcares fermentáveis e não fermentáveis, as proteases produzem peptídeos e aminoácidos, a partir da digestão de proteínas e as beta-gluconase hidrolisam o carboidrato beta-glucano (DRAGONE,

ALMEIDA, SILVA, 2010; BAMFORTH, 2009).

Durante a etapa de mosturação é importante a degradação dos β -glucanos, que aumentam a viscosidade e causam problemas de filtração. Também é necessário degradar proteínas, cujo produto contribui para a nutrição da levedura, estabilidade da espuma e corpo e turbidez. A degradação de ácidos graxos se faz necessária neste processo, pois mesmo que em pequenas quantidades provocam riscos para a estabilidade de sabor, devido a oxidação (ANNEMÜLLER e MANGER, 2013).

Na mosturação ocorre a dissolução dos polifenóis, advindos da casca e do endosperma do grão, responsáveis pela proteção da oxidação e pelo aumento da atividade antioxidante (GOUPY *et al.*, 1999).

Tabela 3 – Enzimas utilizadas no processo de sacarificação do amido.

<i>Enzimas</i>	<i>Temperaturas ideais (°C)</i>	<i>Função</i>
Hemicelulases	40-45	Decomposição da hemicelulose em produtos de médio e baixo peso molecular
Exopeptidases	40-50	Decomposição das proteínas de alto e médio peso molecular em aminoácidos
Endopeptidases	50-60	Decomposição das proteínas em produtos intermediários de alto e médio peso molecular
Dextrinase	55-60	Decomposição do amido em maltose e maltotriose pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 6$
α -amilase	60-65	Decomposição do amido em maltose pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 4$
β -amilase	70-75	Decomposição do amido em dextrinas inferiores pela hidrólise das ligações $\alpha 1 \rightarrow 4$

Fonte: Adaptado de Kunze (2006).

Kunze (2006) preconiza que neste estágio deve-se ter cuidado no controle da temperatura e do pH para garantir a atividade ideal das enzimas presentes no malte, totalizando uma degradação dos sacarídeos.

Os produtos da mosturação, polifenóis, açúcares, dextrinas, substâncias inorgânicas, proteínas, dentre outros, são chamados de Extrato Primitivo e o conhecimento de suas propriedades e constituintes é primordial para formulação de uma cerveja, especialmente para estimar parâmetros como densidade do mosto e teor alcoólico (BAMFORTH, 2009).

Esse processo ocorre por infusão ou decocção, sendo que no último podemos trabalhar com diferentes temperaturas e tempo. Esses processos ocorrem em tanques

cilíndricos de aço inoxidável, que devem ser dotados de sistemas de aquecimento e agitação, o sistema de agitação de ser capaz de movimentar a massa contida em seu interior (VENTURI FILHO, 2005).

Ao final da mosturação, deve-se realizar o teste de iodo a partir da utilização de uma solução de iodo 0,2N, o indicador de uma completa hidrólise do amido é o desaparecimento da coloração roxo-azulada.

2.2.3.3 Filtração

Logo após o processo de mosturação, é necessário separar as fases sólidas do extrato líquido. Nessa operação o bagaço de malte ou torta é separado do mosto. Após a mosturação, o produto é aquecido a 75°C, obtendo desse modo, viscosidade apropriada para o processo de filtração. Nesta etapa, é desejado se extrair ao máximo o líquido para obtenção do mosto (VENTURINI FILHO, 2005).

Primeiramente, obtêm-se o mosto primário, pelo filtro da tina de filtração, em um segundo momento é utilizado o bagaço e lavado com água quente para que se possam retirar os açúcares residuais do bagaço, essa água de lavagem é chamada de mosto secundário, e após a lavagem a torta que sobra é composta pela casca do malte, fragmentos de aleurona, plúmula, restos de parede celular e proteína coagulada considerada um subproduto de alto valor nutritivo, rico em fibras (KUCK, 2008).

A filtragem do mosto é influenciada pela temperatura do mesmo, por isso quanto mais quente estiver, menos viscosa será a sua consistência, tornando mais rápida à filtração. Outra consideração importante a ser feita é a análise da resistência do bagaço, que depende do tipo de malte, qualidade da moagem e intensidade do processo de mosturação (VENTURI FILHO, 2010).

2.2.3.4 Fervura

O objetivo deste processo é extrair o aroma e o gosto amargo do lúpulo, dissolver os adjuntos açucarados (quando utilizado), esterilizar, concentrar, desenvolver cor, inativar enzimas e coagular proteínas presentes no mosto. Durante a fervura, ocorre a destruição da flora bacteriana, a inativação das enzimas que ainda apresentavam alguma atividade e a eliminação de alguns compostos voláteis que conferem odor e sabor da cevada ou de malte, durante essa etapa o lúpulo é adicionado (DEEDS, 2013). Segundo Venturini Filho (2010), o

tempo de fervura deve durar de 60 a 120 minutos, sob pressão atmosférica.

A α -amilase, que está presente no mosto até a filtração, é inativada com objetivo de não decompor os açúcares em etapas posteriores. O escurecimento da cor do mosto é propiciado pela formação de meloidinas obtidas pela reação de aminoácidos com os açúcares (Reação de Maillard), a caramelização dos açúcares e a coagulação do tanino do lúpulo ao reagir com as proteínas presentes no mosto (SANTOS, 2010; TELES, 2007).

O lúpulo é adicionado na forma de pellets, sendo que a primeira vez ocorre no início da fervura do mosto, adicionando um quarto do peso total do lúpulo, responsável pela formação do corpo da cerveja, logo após 30 minutos é adicionado metade do peso total, sendo essa adição responsável pelo amargor da cerveja, a última adição é realizada nos últimos 15 minutos finais, contendo um lúpulo com maiores quantidades de compostos aromáticos, como os óleos essenciais e compostos voláteis, que contribuem para um refino características sensoriais da cerveja (VENTURI FILHO, 2010).

Bamforth (2005) afirma que a esterilidade do mosto cervejeiro é proporcionada por fatores como a adição do lúpulo, tratamentos térmicos proporcionados ao meio, sendo o processo de fervura fundamental para a segurança do mosto, pois a disponibilidade de nutrientes no mesmo representa um risco elevado de desenvolvimento de outros microrganismos competidores com as leveduras de cultivo, podendo causar contaminação por bactérias e outras cepas leveduras.

2.2.3.5 Resfriamento

Segundo Dragone, Almeida e Silva (2010), o mosto deve ser resfriado para temperatura de 10 a 15°C, a fim de inocular a levedura cervejeira, sendo que os mostos de cerveja tipo Lager são resfriados a temperatura baixas (7-10°C) e cervejas do tipo Ale são resfriados em temperaturas um pouco mais altas (18-22°C).

Um processo fundamental para fabricação da cerveja, a aeração, pois disponibiliza oxigênio para a levedura, que em pouco tempo ao ser consumido, promove a produção de ácidos carboxílicos insaturados e esteróis que são constituintes de suas membranas (TELES, 2007; VENTURINI FILHO, 2005).

2.2.3.6 Fermentação

É nesta fase que ocorre as transformações dos açúcares fermentáveis em etanol e gás carbônico, além da síntese de diversos compostos aromáticos e que dão sabor característico a cada tipo de cerveja. Segundo Venturini Filho (2010) a temperatura ideal para as cervejas de baixa fermentação é de 8 a 11°C, durante cinco a sete dias, enquanto que para cervejas de alta fermentação é de 18 a 22°C, durante 3 a 5 dias.

A fermentação pode ser conduzida por um processo contínuo e descontínuo, sendo este último mais utilizado. O processo fermentativo descontínuo ocorre em tanques cilíndricos fechados de aço inoxidável, com fundo cônico, denominados de fermentadores, apresentam sistema de refrigeração, isolante térmico e painéis eletrônicos controladores de temperatura (VENTURINI FILHO, 2010).

A quantidade de levedura adicionada no mosto varia de acordo com a quantidade e composição dos açúcares, da temperatura, da disponibilidade de oxigênio, sendo que a média é em torno de 10^7 células viáveis/mL, que irá fermentar todos os açúcares disponíveis no extrato, formando os produtos da fermentação (KUCK, 2008).

2.2.3.7 Maturação

Esse processo é conhecido como fermentação secundária, mas de fundamental importância para o desenvolvimento de algumas características da cerveja. Esse processo requer uma maior quantidade de tempo (VENTURINI FILHO, 2010).

A maturação tem como objetivo: iniciar a clarificação da cerveja mediante a remoção, por sedimentação, das células de levedura; saturar a cerveja com gás carbônico; melhorar o odor e o sabor da bebida, através da concentração de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico, transmitindo o *flavour* de fresco na cerveja; evitar a oxidação da cerveja (GIGGS, 2013).

Pode ser realizado em um tanque posterior ao tanque de fermentação, ou na própria garrafa, no caso de cerveja caseira. A maturação é conduzida à baixa temperatura, 0°C por um período superior a 15 dias (BOZZANI, 2001).

A maturação feita em garrafa é bastante comum, porém a gaseificação precisa acontecer ao mesmo tempo, através da técnica de *priming*, pois não se é aconselhável tirar a cerveja da garrafa para gaseificar, pelo retrabalho e ineficiência do processo. A técnica de *priming* consiste na adição de açúcares fermentáveis para que a levedura fermente e libere

CO₂ (PALMER, 1999).

2.2.3.8 *Envase*

O engarrafamento consiste no acondicionamento do produto em lata (alumínio) garrafa (vidro) e barril (alumínio e aço inoxidável). Mas geralmente utilizam dois tipos de garrafa, a retornável e a não retornável, também denominada de “oneway” (VENTURINI FILHO, 2010). As primeiras requerem lavagem (com solução cáustica), enxágue e reenxágue, enquanto as garrafas descartáveis, tal como as latas, apenas recebem um jato de ar estéril seguido por outro de água esterelizada.

2.2.3.9 *Pasteurização*

Segundo Bamforth (2009), a pasteurização é uma prática comum nas cervejarias, principalmente quando as embalagens garrafa e lata são utilizadas. Consiste em um tratamento térmico onde a cerveja é submetida a um aquecimento a 60°C por 30 min, garantindo assim uma vida de prateleira de 180 dias.

2.2.4 *Ingredientes do processo cervejeiro*

Bettenhausen *et al.*, (2018) afirma que compreender os mecanismos de como os ingredientes crus e suas interações influenciam a qualidade da cerveja é fundamental para a indústria cervejeira e que as características sensoriais da cerveja são altamente discerníveis pelos consumidores com base em sabor (sabor e aroma), aparência e retrogosto.

Os ingredientes influenciam diretamente sobre a qualidade da cerveja, sendo assim, a qualidade da matéria-prima é muito importante para a geração de uma cerveja de qualidade. Segundo Almeida e Silva (2005), os ingredientes da cerveja são a água, malte de cevada, lúpulo, fermento e adjuntos.

2.2.4.1 *Água*

A água é uma das matérias-primas básicas, uma vez que cerca de 95% do peso da cerveja é constituído dela, além de ser indispensável para efetuar a limpeza, gerar calor e frio nas fábricas, totalizando todos essas operações tem-se um consumo médio de 4 a 10 litros de

água para cada litro de cerveja. Por esse motivo, as indústrias cervejeiras localizam-se em regiões onde a composição da água é de boa qualidade (BAMFORTH, 2009).

Esse componente deve apresentar requisitos básicos como a potabilidade, transparência, ausência de cor, odor, estar livre de qualquer sabor estranho, nitratos, metais pesados e amoníaco, pois a presença desses compostos dissolvidos influenciam diretamente os processos químicos e enzimáticos, que ocorrem durante o processamento da cerveja (DEEDS, 2013).

No entanto, se a água não for de boa qualidade ou não apresentar composição química adequada, poderá ser tratada por diferentes processos visando purificá-la e, se necessário, efetuar algumas modificações nos níveis de íons inorgânicos apresentados. Na fonte, a água deve apresentar alcalinidade máxima de 50 ppm, pH na faixa de 4 a 9 e possuir aproximadamente 50 ppm de cálcio (VARNAM, SUTRELAND, 1997; VETURINI FILHO, 2010).

Além disso, a água deve assegurar um pH desejável pois garante uma mistura uniforme de malte e adjunto durante a mosturação, promove a extração dos componentes amargos e aromáticos do lúpulo, e causam uma boa coagulação do *trub* (resíduo) durante a fervura do mosto, a fim de permitir uma fermentação asséptica e desenvolver cor, aroma e sabor característicos do tipo de cerveja a ser fabricada (BERNSTEIN, WILLOX, 1977).

2.2.4.2 Malte

A contribuição da cevada para o sabor da cerveja é largamente aumentada graças ao processo de maltagem. Como ingrediente, o malte, fornece sacarídeos, proteínas e enzimas que facilitam a fermentação. O conteúdo destas características é usado para descrever a qualidade do malte como ingrediente (Tabela 4). Essas características são primordiais para o sabor, como o excesso de sacarídeos ou dextrina podem caracterizar a formação de cervejas doces e encorpadas (BOKULICH, BAMFORTH, 2013; BETTENHAUSEN *et al.*, 2018).

O malte é o produto obtido pela germinação e secagem da cevada (*Hordeum vulgare* L.), devendo o malte de outros cereais ter a designação acrescida do nome do cereal de sua origem (BRASIL, 2009).

O termo técnico *malte* define a matéria-prima resultante da germinação, sob condições controladas, de qualquer cereal (cevada, arroz, milho, trigo, aveia, sorgo, triticales etc.). Deve-se levar em conta, entre outros fatores, sua quantidade de enzimas sacarificantes e o seu valor econômico (VENTURINI FILHO, 2010).

O malte utilizado pelas cervejarias é geralmente obtido da cevada, gramínea cujos grãos em espigadas, alinhados em duas ou seis fileiras, são envoltos por diversas camadas celulósicas, sendo a primeira camada denominada de palha (eliminada durante o beneficiamento) e as outras aderentes ao grão são denominadas de casca (BOKULICH, BAMFORTH, 2013). Segundo Janjar (2007) essa casca protege o grão naturalmente das influências atmosféricas danosas e possibilita, posteriormente, a formação de uma camada filtrante durante a clarificação do mosto (separação do bagaço).

Logo após a colheita, os grãos de cevada são armazenados em silos, em condições controladas de temperatura e umidade, sendo enviados para a Maltearia, onde a semente sofrerá um processo de germinação interrompida, em que o amido presente no grão será reduzido em moléculas menores, além de aumentar a taxa de síntese enzimática, deixando o grão com características ótimas para que ocorra a fermentação, onde o amido é convertido em açúcares e proteínas em aminoácidos (OLIVER, 2012).

Segundo Deeds (2013), o processo de malteação é feito em quatro etapas básicas, a maceração, germinação, secagem e torrefação, onde cada uma tem sua importância para o processo e para a qualidade do malte. Na torrefação temos a diferenciação dos tipos de malte por sua coloração, de acordo com o tempo de exposição ao calor. A Tabela 4 apresenta valores importantes quanto à composição média do grão de cevada em comparação ao malte.

Tabela 4 – Composição do grão de cevada e malte.

Características	Cevada	Malte
Massa do Grão (mg)	32-36	29-33
Umidade (%)	10-14	4-6
Amido (%)	55-60	50-55
Açúcares (%)	0,5-1,0	8-10
Nitrogênio Total (%)	1,8-2,3	1,8-2,3
Nitrogênio solúvel (% de N total)	10-12	35-50
Poder diastásico, °Lintner	50-60	100-250
A-amilase, unidades de dextrina	Traços	30-60
Atividade proteolítica	Traços	15-30

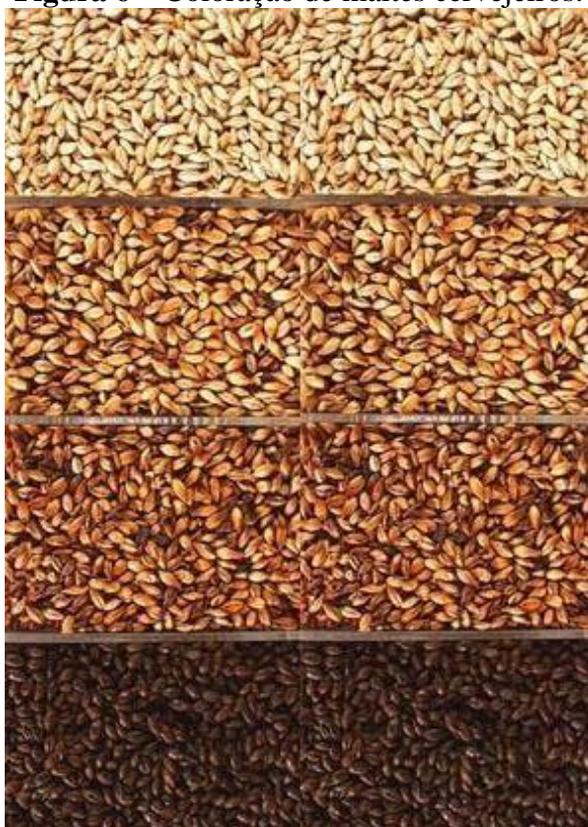
Fonte: Cereda (1985).

A principal função do malte é fornecer açúcares e nutrientes que servirão de

substratos para a levedura, produzindo álcool, gás carbônico e outros subprodutos da fermentação (BAMFORTH, 2009). Além disso, a composição dos maltes utilizados na formulação de cerveja vai proporcionar aromas e sabores característicos, e tem grande influência na cor da bebida (Figura 6).

Segundo Venturini Filho (2005), o malte pode ser apresentado em grãos ou em extrato, seco ou líquido, onde os mesmos podem ser classificados como maltes-base e maltes especiais. Os maltes-base são à base da receita, enquanto os especiais conferem aroma, sabor e cor diferenciados a cerveja.

Figura 6 – Coloração de maltes cervejeiros.



Fonte: Venturini Filho (2005)

Para a avaliação do potencial de maltagem da cevada devem ser analisadas algumas características, como: poder germinativo maior que 95% e o percentual de germinação (CARVALHO, 2007).

2.2.4.3 *Lúpulo*

O lúpulo, *Humulus lupulus*, é de difícil cultivo e típico de regiões frias; é dióptico,

possui flores masculinas e femininas em plantas diferentes. Apenas as flores são de interesse, elas ficam agrupadas em cachos ou umbelas em várias dobras, formando uma bolsa onde são alojados os grânulos de lupulina, que encerra as substâncias de interesse cervejeiro responsáveis pelo amargor e aroma característicos da cerveja (TSHOPE, 2001; VENTURINI FILHO, 2010).

Podendo ser comercializados na forma de flores secas (in natura), pellets ou em extratos, podendo ser classificado como lúpulos aromáticos e de amargor conforme suas características predominantes (SEIDL, 2003). Segundo Kunze (2006), na atualidade existem várias maneiras de manipular o lúpulo através de seleção e cruzamento, peletização, extração e isomerização para oferecer as melhores características à cerveja.

Pellets e extratos são as formas de beneficiamento mais utilizadas no mundo, sendo responsável por 95% da produção, tendo como principal razão a concentração de ácidos amargos e óleos essenciais existentes na flor, otimizando questões de logística e custo de transporte.

A Tabela 5 mostra a composição química do lúpulo em flor, sendo que os componentes com maior importância são os óleos essenciais, as substâncias minerais, os polifenóis e as resinas amargas (α -lupulinas e β -lupulinas), pois os açúcares e os aminoácidos são componentes solúveis e presentes em pequena proporção, lipídeos, proteínas e a celulose são componentes insolúveis (SEIDL, 2003).

Apesar de serem altamente voláteis, com perdas em torno de 97% no decorrer do processo cervejeiro, os óleos essenciais conferem ao mosto e a cerveja o caráter aromático do lúpulo, enquanto os minerais e os polifenóis são responsáveis por proteger a cerveja, e as resinas, podem ser resinas brandas totais, que apresentam α -ácidos ou humulonas que após isomerização tornam-se solúveis e responsáveis pelo principal amargor da cerveja, e resinas duras, substâncias solúveis e responsáveis por um forte e áspero amargor (TSHOPE, 2001).

Segundo Almeida e Silva (2005), o lúpulo atua, também, como antisséptico apresentando efeito bacteriostático e contribui para a coagulação de proteínas, para a estabilidade do sabor e para a retenção de espuma na cerveja acabada. As dosagens de lúpulo são de 1,5 a 4,5 g/L.

Tabela 5 – Composição química do lúpulo em flor.

Características	%
Resinas Amargas Totais	12-22
Proteínas	13-18
Celulose	10-17
Polifenóis	4-14
Umidade	10-12
Sais minerais	7-10
Açúcares	2-4
Lipídios	2,5-3,0
Óleos essenciais	0,5-2,0
Aminoácidos	0,1-0,2

Fonte: Tschope (2001)

2.2.4.4 *Levedura*

A levedura é um fungo, que se reproduz assexuadamente podendo originar de cada célula, 20 outras. Apresenta-se, geralmente, de forma unicelular, estando distribuída em 39 gêneros e cerca de 350 espécies, crescem numa faixa ampla de pH ácido, em até 18% de etanol e em presença de 55 a 60% de sacarose, apresentam diferentes cores, do marfim ao vermelho, algumas são altamente resistentes a temperatura (JAY, 2005).

Embora as leveduras tenham como principal produto da fermentação o etanol, elas são determinantes nas características de aroma e sabor de qualquer cerveja. No meio cervejeiro é comum a difusão da ideia da existência de dois tipos de fermento cervejeiro, o primeiro, *Saccharomyces cerevisiae*, cepa de alta fermentação, seria responsável pelas Ales, cervejas de alta fermentação, onde as leveduras trabalham sob temperaturas maiores, entre 16° e 25°C, podendo ter crescimento até por volta dos 37°C e responsável pela produção de cervejas com aroma e sabor frutados. O segundo, *Saccharomyces cerevisiae*, cepa de baixa fermentação, usado para cervejas Lagers, cervejas de baixa fermentação, onde as leveduras atuam sob temperaturas mais amenas, entre 8° e 15°C, podendo crescer até 34°C e produzindo cervejas, menos frutas e encorpadas (VENTURINI FILHO, 2010; LIMA, 2010).

Mesmo que façam a mesma atividade de transformação dos carboidratos resultantes do malte em álcool e gás carbônico, podem produzir, por diferenças de metabolismo, aroma e sabor bem variados. Assim, tem-se uma infinidade de opções de cepas,

cada qual mais propicia para a produção de determinadas características de aroma e sabor, então para a melhor escolha de uma cepa de levedura, deve-se levar em conta as especificidades de casa cerveja (BORZANI, 2001).

Segundo Bamforth (2005), o conhecimento das propriedades funcionais e suplementares de cada levedura é fundamental, juntamente com a matéria-prima e processos técnicos adequados, para o cervejeiro fabricar determinado tipo de cerveja.

Para se escolher a levedura apropriada para cada processo analisa-se o comportamento em suspensão dos flocos formados após a fermentação e o crescimento da biomassa produzida. Segundo Lima (2010) um dos meios de se garantir qualidade e evitar contaminação cruzada nas dornas de fermentação é o isolamento de uma única espécie de levedura, que pode ser propagada e alcançar níveis de inoculação de mosto em escala industrial.

2.2.4.5 Adjunto

Em vários países, a substituição parcial do malte por adjuntos na fabricação de cervejas é permitida por lei, sendo vários os tipos de matérias-primas autorizadas. Os adjuntos apresentam menores custos de produção em relação ao malte, e os adjuntos líquidos, possuem preços ainda mais competitivos, sendo que cada empresa define a proporção de malte e adjunto em seus produtos, conforme lhe convém, seguindo uma tendência mundial de aumento de adjuntos por parte das cervejarias, entretanto seu uso abusivo pode causar prejuízos na qualidade do produto final (VENTURINI FILHO, 2010).

Segundo Brasil (2009), considera-se adjuntos cervejeiros a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como amidos e açúcares de origem vegetal, e seu emprego não poderá ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo.

O adjunto melhora a estabilidade físico-química da cerveja, reduzindo a sua turvação, como também confere uma cor mais clara, corpo mais leve, sabor e aroma mais suave, uma vez que, com seu uso, ocorre redução das concentrações de extrato de malte (BAMFORTH, 2009).

Entretanto, quando utilizado em excesso, pode causar alguns problemas, tais como, mosto com baixo teor de nitrogênio, prejudicando o metabolismo da levedura, elevando a viscosidade, retardando a filtração, causando a sensação de cerveja “aguada” e com baixa qualidade de espuma (BRADEE, 1977).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Tecnologia de Cereais na Universidade Federal do Ceará - UFC, no Parque de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC e no Campus Teresina Central do Instituto Federal do Piauí - IFPI.

Os materiais utilizados como base para a formulação da cerveja artesanal foram de uma formulação padrão de Witbeer, da escola Belga de cervejas (BJCP, 2015). São eles:

- Malte Pilsen;
- Malte Pale Ale;
- Malte Trigo;
- Lúpulo Goldings (*Pellet*);
- Levedura WitAle Belga (*Saccharomyces cerevisiae*);
- Água: adquirida em comércio local (pH 5,2, Sódio 79 mg/L, Cálcio 1,579 mg/L, Bicarbonato 70,04 mg/L, Cloreto 30,1 mg/L);
- Casca de laranja seca;
- Semente de coentro;
- Fava D'anta (*Dimorphandra gardneriana Tulasne*);
- Rutina purificada padrão DAB.

3.1 Obtenção e caracterização física de fava d'anta e rutina purificada

A Fava D'anta (*Dimorphandra gardneriana Tulasne*), farinha do pericarpo com granulometria de 200 Mesh foi obtida através de trituração do fruto (Figura 7), os frutos foram coletados na Chapada do Araripe, no Parque Nacional da Flona Araripe-Apodi, Município do Crato, Ceará, Brasil. e a Rutina purificada padrão DAB (Apêndice A e B) obtida da Fava D'anta.

Os Frutos do faveiro foram coletados no sistema de coleta extrativista, no Parque Nacional da Flona Araripe-Apodi, onde obedecem ao fluxograma apresentado na figura 7, para a obtenção de rutina, ao qual foi objetivo do presente estudo.

Figura 7 – Fluxograma da obtenção dos materiais.



Fonte: Autor, 2019.

Para a obtenção da rutina padrão DAB, primeiramente o fruto passou por uma seleção, depois uma secagem ao sol por 36 horas, sendo revirado para facilitar o desprendimento da água livre. O fruto seco foi triturado em moinho de facas, para atingir uma granulometria em torno de 200 Mesh. Esse pó foi utilizado como amostra de fava d'anta para a incorporação na cerveja, como também foi purificado para a obtenção de rutina padrão DAB.

O pó de Fava d'anta foi colocado em sistema de Soxlet com solvente orgânico, o solvente foi filtrado e rotoevaporado, obtendo um concentrado orgânico de fava, em seguida esse concentrado foi lavado com água destilada, para retirada das substâncias hidrofílicas. Depois de lavado, o concentrado foi seco, para total retirada da água livre. Depois de seco o material foi pulverizado, garantindo uma conformidade. Depois de pulverizado, o material foi novamente purificado e seco em estufa para obtenção do pó de Rutina Padrão DAB. O rendimento foi calculado, massa de rutina (g) / massa de pó de fava (g), onde o resultado foi de 8,01%.

Para caracterizar os materiais que tem a capacidade de incorporação em matrizes alimentares foi feito as análises descritas abaixo.

3.1.1 Caracterização dos materiais

3.1.1.1 Termogravimetria (TG e DTG)

A estabilidade térmica dos compostos foram estudadas por termogravimetria em analisador termogravimétrico Shimadzu, TGA-51, no Laboratório de Materiais (LabMat) do IFPI. As amostras foram acondicionadas em porta-amostras de platina e os experimentos foram realizados em atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/min. A temperatura foi elevada a 600 °C, com taxa de aquecimento de 2 °C/min.

3.1.1.2 Difração de Raios X (DRX)

Os compostos foram submetidos a análise de difração de raios X em Difratorômetro PANalytical Empyrean, localizado no Laboratório de Materiais (LabMat) do IFPI. Foram realizados varreduras de 5° a 60° (2 θ), com velocidade de 2°/min e o equipamento operando em potência de 40 kV/40 mA, com radiação de CoK α . A fava d'anta e a rutina purificada em pó (200 mesh).

O índice de cristalinidade foi calculado através do método de deconvolução de picos, que consiste no ajuste dos picos dos difratogramas através de software específico. O modelo matemático utilizado foi o de Levenberg-Marquardt (LIMA *et al.*, 2012).

3.1.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria por energia dispersiva (EDS)

A morfologia das amostras foram analisadas através da obtenção de micrografias por um microscópio eletrônico de varredura Shimadzu Corporation – Superscan SSX- 550 SEM EDX, em uma angulação de 33 a 45 graus negativos e voltagem de 15kV, no LabMat-IFPI. Antes de serem levadas ao microscópio, as amostras foram colocadas sobre fita de carbono e metalizadas com uma camada finíssima de ouro (15nm), pulverizado em metalizador.DESK II – DENTON VACCUM.

As amostras foram submetidas a análise de componentes principais em espectrometria por energia dispersiva em MEV acoplado ao aparelho de EDS, marca Shimadzu Superscan SSX-550 SEM EDX.

3.2 Planejamento Experimental

3.2.1 Testes preliminares

Foram realizados testes preliminares em condições distintas de adição da fava em diferentes etapas do processo produtivo da cerveja, na mosturação, na fervura, na fermentação e na maturação (Figura 8). Dentre eles, foi escolhido para o estudo a etapa de fervura (Tabela 6), pois na mosturação a temperatura alcançada não é suficiente para solubilizar a rutina, logo grande parte da rutina ficou retida no meio filtrante juntos com os outros componentes da fava.

A adição da fava d'anta no processo de fermentação agregou alguns compostos com elevada adstringência a cerveja, além de aumentar a turbidez, fatores que são importantes na característica final do produto. A fava d'anta quando adicionada no processo de maturação obteve características semelhantes à fermentação, apenas com adstringência atenuada.

Surgindo a necessidade de utilizar a rutina purificada para a formulação e comparação de uma cerveja especial com alto valor agregado. Com isso os ensaios de produção de cerveja foram elaborados de acordo com a tabela 6, com o objetivo de estudar as

solubilização e mudanças que ocorreriam no processo com a adição do flavonoide. A forma destas variáveis foram escolhidas de acordo com afinidade de solubilização da rutina.

Tabela 6 – Ensaio e variáveis utilizadas.

<i>Ensaio</i>	<i>Forma da matéria-prima</i>	<i>Etapa do processo</i>	<i>Quantidade (g/L)</i>
RUTBEER PADRÃO	-	-	-
RUTBEER 001	Fava d'anta	Fervura	6,25*
RUTBEER 002	Rutina purificada	Fermentação	0,5
RUTBEER 003	Rutina purificada	Fervura	0,5

Legenda: *Considerando o pó da fava d'anta com 8% de rutina.
Fonte: Autor, 2019.

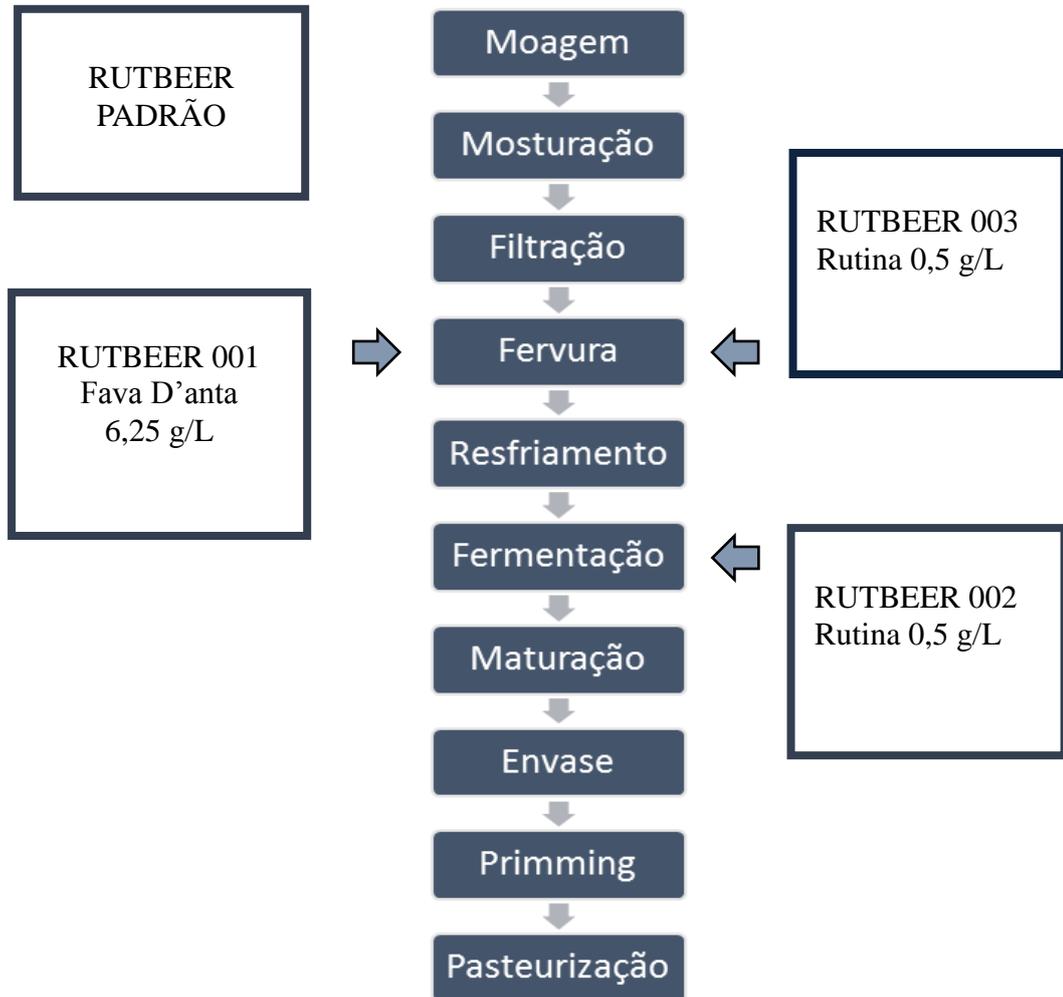
Para a realização dos testes preliminares foram utilizados bateladas de 5 litros de mosto cervejeiro em fermentadores adaptados para este fim.

3.2.2 *Formulação da Cerveja*

O processamento da cerveja em escala laboratorial, com equipamento de rendimento para 25 litros de cerveja. Os ingredientes foram pesados em balança semi-analítica OHAUS AR2140.

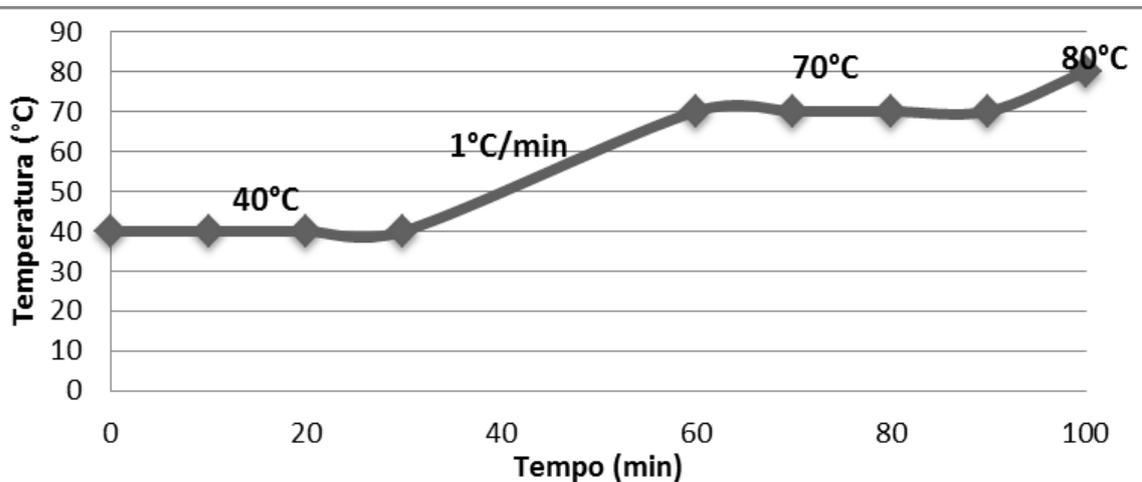
A Figura 8 apresenta o fluxograma utilizado no estudo. O malte foi triturado em moinho, misturado com água, aquecido facilitando a dissolução, em seguida o processo de mosturação foi conduzido de acordo com a Figura 9, a rampa de temperatura utilizada teve objetivo de melhor extrair os açúcares e proteínas do mosto, e ao final desse processo foi realizado o teste do iodo, para confirmação da sacarificação do amido.

Figura 8 – Fluxograma de processamento da Cerveja com adição de Rutina e Fava d’Anta.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 9 – Programação de tempo e temperatura no processo de mosturação por infusão.



Fonte: Gigg's (2013).

No recipiente de mosturação, equipado com um fundo falso com capacidade para 35 litros, o mosto (primário) foi separado do bagaço do malte por meio de filtração convencional (1 atm), após a filtração, lavou-se a torta residual com água (80°C), geralmente 2,25*Peso do malte(kg), para extração dos açúcares residuais, obtendo o mosto secundário com °Brix estável, ambos foram misturados e fervidos a 100°C/80min.

Durante a fervura foi adicionado 1% lúpulo em relação ao peso do malte, divididos em 4 partes adicionados em tempos diferentes. Logo após, o mosto foi resfriado rapidamente por um sistema de troca de calor, em seguida ocorreu a decantação, visando à separação do *trub*.

Colocou-se o mosto clarificado no fermentador e corrigiu-se seu teor de extrato até 15°Brix através da adição de água, conforme a equação 1. Após o resfriamento, o mosto foi inoculado com a levedura cervejeira de alta fermentação da espécie *Saccharomyces cerevisiae* WitAle® e acondicionado a uma temperatura de 14-18°C, a partir de então ocorreu a fermentação.

$$B_1 \times M_1 + B_2 \times M_2 = B_3 \times M_3 \quad (1)$$

Onde:

B_1 = Brix inicial do mosto; M_1 = massa inicial do mosto; B_2 = Brix da água; M_2 = Massa da água; B_3 = Brix do mosto final; M_3 = massa do mosto final.

A fermentação do mosto foi acompanhada durante 7 dias, com coletas de mosto a cada 12 horas. Logo após a fermentação ocorreu o resfriamento da cerveja para um processo de maturação a 7-9°C por 7 dias, posteriormente a cerveja foi engarrafada manualmente em garrafas com capacidade para 300 mL, característica *One Way*.

Os tratamentos foram armazenadas em freezer a temperatura de 8 °C, por 15 dias para que ocorresse a carbonatação através da fermentação do açúcar residual proveniente da cerveja, por ação das leveduras remanescentes. Logo após a carbonatação à cerveja foi pasteurizada em banho-maria por 62°C por 30 min e sua posterior armazenagem em temperatura ambiente (25°C) até a realização das análises.

3.3 Acompanhamento da Fermentação

Para acompanhamento analítico da fermentação foram retiradas amostras de cerveja a cada 12 horas durante os 7 dias de fermentação, para a determinação de pH, teor alcoólico (% v/v), Sólidos Solúveis Totais (°Brix) e concentração celular (g/L). A

concentração foi obtida através de técnica de concentração por peso seco (g/L), onde 10 mL da cerveja foram desgaseificados e centrifugados a 3000 rpm por 15 min. O sedimento celular foi ressuspensão com água destilada e novamente centrifugado e seco em estufa de circulação forçada a 105°C até peso constante, em placas de alumínio (ASBC, 1996; AOAC, 2006; IAL, 2005).

3.4 Análises físico-químicas e químicas da cerveja

Todas as determinações abaixo descritas foram realizadas em amostras descarbonatadas em temperatura ambiente (26°C).

3.4.1 Teor Alcoólico (v/v)

Transferiu-se 100 mL da amostra para o conjunto de destilação, adicionando-se 1 gota de material antiespumante, para prevenir a formação de espuma durante a destilação. O destilado foi recolhido em um balão volumétrico de 100 mL contendo 10 mL de água destilada. Destilou-se até aproximadamente 75% do volume inicial, completando o volume com água. Determinou-se a densidade relativa desta solução a 20 °C pelo densímetro. Foi utilizado a Tabela de referência para conversão em porcentagem de álcool em volume (AOAC, 2006)

3.4.2 Extrato Real

Transferiu-se 20 mL de amostra descarbonatada, para uma cápsula previamente aquecida em estufa a 100 °C por 1 hora, resfriada em dessecador e pesada. A amostra foi aquecida em banho-maria até a secagem, logo após resfriou-se em dessecador e pesou-se. A fórmula é $100 P/V = \text{Extrato real (\% m/v)}$, onde P = massa do resíduo (g) e V = volume da amostra (mL) (AOAC, 2006).

3.4.3 Extrato Aparente

Filtrou-se 100 mL de amostra descarbonatada e determinou-se a densidade relativa a 20°C do filtrado, convertendo esse valor em extrato aparente através de referência (AOAC, 2006).

3.4.4 Extrato primitivo ou original

Este resultado foi obtido por meio de cálculo envolvendo os valores de teor alcoólico e extrato real segundo a fórmula de Balling.

$$\frac{[(P \times 2,068) + Er] \times 100}{[100 + (P \times 1,066)]} = \text{extrato primitivo, em \% m/m} \quad (2)$$

Onde:

P = % de álcool em peso; Er = % de extrato real (AOAC, 2006).

3.4.5 pH

As amostras foram colocadas em béqueres de 50 mL para a leitura direta através do pHmetro (TEC-5 TECNAL), conforme descrito (AOAC, 2006).

3.4.6 Acidez Total

Colocou-se 10 mL da amostra descarbonatada em um Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL de água. Adicionando 0,5 mL de fenoftaleína e titulou-se com solução de hidróxido de sódio padronizada 0,1 N, até coloração rósea persistente, pH entre 8,2 e 8,4, utilizando o pHmetro (IAL, 2005).

3.4.7 Acidez Volátil

As amostras foram destiladas em sistema por arraste de vapor, onde foi coletado 100 mL do produto em um Erlenmeyer de 250 mL, contendo 20 mL de água destilada e 0,5 mL de Fenolftaléina e titulou-se até a coloração rósea persistente (IAL, 2005).

3.4.8 Cor

Utilizando parâmetros da escala colorimétrica da European Brewing Convention (EBC, 2009).

3.4.9 Sólidos Solúveis Totais

As cervejas foram medidas diretamente em Refratômetro Digital de Bancada Marca Abbe, modelo com escala de %Brix 0-95% (IAL, 2005).

3.4.10 Açúcares Totais

As cervejas foram submetidas ao teste de Lane-Eynon para determinação de carboidratos conforme descrito no manual de Análise de Alimentos do Instituto Adolf Lutz (IAL, 2005).

3.5 Análises Microbiológicas

As análises foram conduzidas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Campus Teresina Central do Instituto Federal do Piauí e no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará.

As análises Microbiológicas foram realizadas de acordo com ICSMSF (2011), os coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras e e.coli.

Foram transferidos 25 mL da amostra em 225 mL de água peptonada e a partir da solução 10^{-1} , foram diluídas a solução de 10^{-2} e 10^{-3} e inoculados em Caldo Lauril e em placas contendo Potato Dextrose Agar (P.D.A.) acidificado a pH 3,5. As amostras que formaram gás nos tubos submetidos aos testes confirmativos, onde foi praticada a semeadura em tubos contendo 10 mL do Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante – CLBVB, incubados a 35 °C por 24 e 48 h, e tubos contendo 10 mL do Caldo E.C., incubados a 45 °C por 24 e 48h. A formação de gás nos tubos caracteriza como a presença de coliformes, sendo o resultado expresso em NMP.

3.6 Análise Sensorial

As formulações de cerveja foram distribuídas em um delineamento de blocos incompletos onde as quatro cervejas foram provadas igualmente 60 provadores não treinados, totalizando 60 repostas completas para cada tratamento.

Foi aplicado um teste de Aceitação, avaliando os atributos sabor, cor, aroma,

corpo e aceitação global utilizando-se escala hedônica estruturada de nove pontos, na qual 9 representa “gostei muitíssimo” e 1 “desgostei muitíssimo”. Também foram avaliadas quanto a intenção de compra através de escala estruturada de cinco pontos, na qual 5 representa “certamente compraria” e 1 “certamente não compraria” (DUTCOSKY, 2011).

As amostras foram apresentadas a provadores não treinados, maiores de 18 anos, de forma monádica, à temperatura de $9^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, em copos codificados com números de três dígitos escolhidos de forma aleatória, onde cada amostra foi avaliada por 60 provadores (Figura 10). Os provadores posicionados em cabines individuais foram orientados a observar as características globais e ao preenchimento das fichas de respostas (Apêndice C) e o termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Acordo com o Comitê de Ética na Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (Apêndice D).

As amostras com adição de Rutina e Fava d’Anta, foram avaliadas quanto a preferência dos provadores, no qual foi aplicado o teste de ordenação-preferência, a amostra preferida soma dois pontos, a intermediária um pontos e a menos preferida zero ponto, as amostras foram servidas logo após o teste hedônico.

Figura 10 – Teste Sensorial.



Fonte: Autor, 2019.

3.7 Análise de compostos bioativos e biodisponibilidade na Cerveja

3.7.1 Simulação in vitro da digestão gastrointestinal

A digestão in vitro de 10 mL da cerveja com rutina adicionada durante o processo de fervura foi realizada em quatro etapas: oral, gástrica, duodenal e simulação da ação enzimática da microbiota colônica, conforme protocolos de Minekus et al. (2014) e Fogliano et al. (2011). Após cada etapa, a solução foi centrifugada a 2177,28 g por 40 minutos, e filtrada à vácuo em papel filtro quantitativo. O sobrenadante foi coletado, o volume aferido e armazenado a -20 °C. Para todas as etapas da digestão foi preparado branco, sem adição de amostras, para evitar a superestimação na quantificação dos compostos analisados.

3.7.2 Determinação de compostos bioativos

Os compostos fenólicos foram analisados por Folin Ciocalteu em meio alcalino, mensurados a 720nm em espectrofotômetro UV-VIS e expressos em mg de ácido gálico.mL⁻¹ de amostra (SWAIN e HILLS, 1959). O cálculo do teor total de fenólicos foi realizado a partir da equação de regressão linear da curva padrão de ácido gálico ($y=0,0047x - 0,004$; $r = 0,9998$), preparada nas concentrações de 5 a 180 µg.mL⁻¹.

Os flavonóides totais foram quantificados pelo método de tricloreto de alumínio (AlCl₃), mensurados a 510 nm em espectrofotômetro UV-VIS e expressos em mg de catequina.mL⁻¹ de amostra (ZHISHEN et al., 1999). O cálculo do conteúdo total de flavonóides foi feito a partir da equação de regressão linear da curva padrão de catequina ($y= 3,575x - 0,0079$; $r = 0,9983$), preparada nas concentrações de 0,02 a 0,12 mg.mL⁻¹.

Os flavanois totais foram analisados por DMACA 0,1% em HCl 1N em metanol, mensurados a 640nm em espectrofotômetro UV-VIS e expressos em MG equivalente de catequina. mL⁻¹ de amostra (ARNOUS et al., 2002). O cálculo do teor total de flavanois foi feito a partir da equação de regressão linear ($y= 0,0731x + 0,0708$; $r= 0,999$), preparadas nas concentrações de 0,02 a 0,12 mg.mL⁻¹.

3.7.3 Avaliação da atividade antioxidante in vitro

A atividade antioxidante das frações bioacessíveis, pelo método de sequestro do radical ABTS^{•+}, foi determinada de acordo com Re et al. (1999), mensurada a 734 nm,

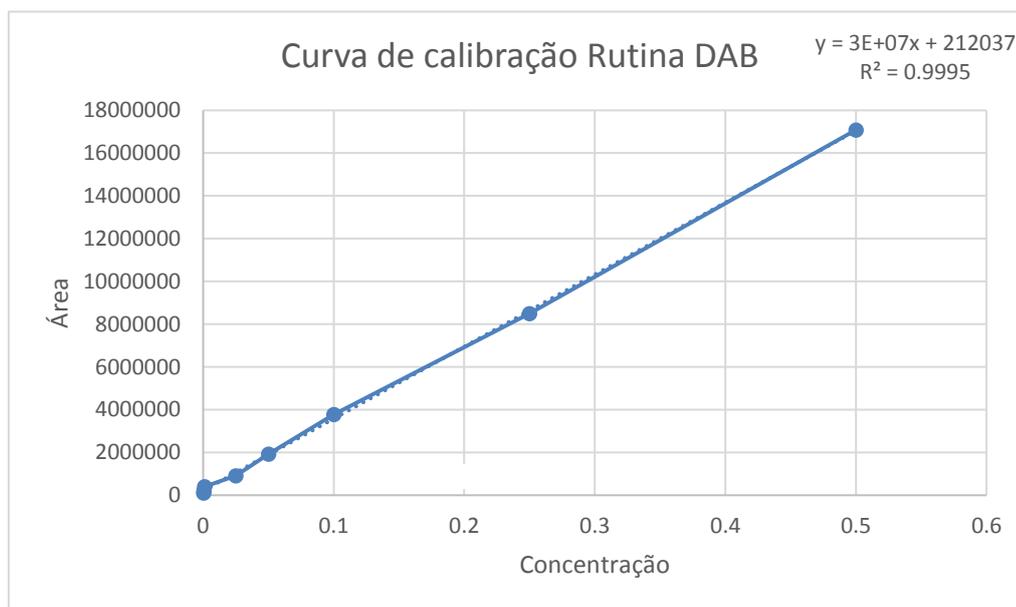
espectrofotômetro UV-VIS, após 6 minutos do início da reação. O cálculo da atividade antioxidante foi feito a partir da equação de regressão linear da curva padrão de Trolox ($y = 0,0009x - 0,0722$; $r = 0,9985$), preparada nas concentrações de 25 a 700 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Os resultados foram expressos em TEAC, em μmol de Trolox. mL^{-1} da amostra.

A avaliação da capacidade redutora do ferro foi avaliada segundo Arnous et al. (2002). As amostras reagiram por 30 minutos com solução de cloreto de ferro (3mM), em banho-maria a 37 °C. Adicionadas à solução ácida de TPTZ e, mensuradas a 620 nm, em espectrofotômetro UV-VIS, após 10 minutos. O cálculo potencial redutor foi feito a partir da equação de regressão linear da curva padrão de Trolox ($y = 0,0023x + 1699$; $r = 0,9999$), preparadas nas concentrações de 30 a 625 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Os resultados foram expressos em TEAC em μmol de Trolox. mL^{-1} da amostra.

3.7.4 Determinação de Rutina, Quercetina e Kaempferol por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

Para que fossem obtidos resultados que expressassem quantitativamente e qualitativamente os flavonoides encontrados nas amostras de cervejas, foi feita uma análise cromatográfica individual utilizando o cromatógrafo líquido de alta eficiência com detecção de diodo (CLAE-DAD/UV-Vis) com bombeamento isocrático. Coluna de fase reversa Shim-pack CLC ODS (M) 25cm foi utilizada para o corrimto. A coluna foi mantida a temperatura ambiente em todas as análises e os comprimentos de onda utilizados para detecção foram 350 nm. O volume injetado foi de 20 μL , com vazão de 1mL/min. As fases móveis utilizadas foram solução tampão de ácido fosfórico pH= 2,8 e Acetonitrila grau HPLC (80:20). Com tempo de corrimto de 20 minutos. Os padrões utilizados para este estudo foi flavonóis (rutina, quercitina e Kaempferol). Na análise em CLAE, os compostos fenólicos são identificados comparando o tempo de retenção com os dos padrões puros (Figura 11), cromatograma apresentado no Apêndice B.

Figura 11 – Curva de calibração para Rutina, isoquercitrina e Kaempferol.



Fonte: Autor, 2019.

3.7.5 Avaliação do índice de bioacessibilidade dos compostos antioxidantes

Para avaliar as alterações nos compostos bioativos, ao longo da digestão gastrointestinal *in vitro*, os índices de bioacessibilidade (IB) foram calculados de acordo com Ortega et al. (2011).

3.8 Estabilidade da cerveja

A cerveja mais aceita nos parâmetros físico-químicos, microbiológico, bioativos e sensoriais foi analisada durante 90 dias, com um intervalo de 15 dias, Totalizando 7 leituras da amostra. Os testes físico-químicos realizados foram de Teor Alcoólico (v/v), Extrato Real, Extrato Aparente, Extrato primitivo, pH, Acidez Total, Acidez Volátil, Açúcares Totais, Cor e Sólidos Solúveis Totais.

Os testes microbiológicos foram Bolores e leveduras, Coliforme totais e termotolerantes e E.coli. Os testes sensoriais foram os Testes de aceitação e intenção de compra.

A cerveja foi injetado no CLAE para a identificação dos flavonoides e sua estabilidade foi medida a cada 30 dias, durante um período de 180 dias.

3.9 Avaliação Estatística

As análises foram feitas em triplicata e os resultados obtidos foram avaliados através de teste de normalidade dos dados. Logo após foram submetidos a teste de ANOVA e as médias foram submetidos a teste de tukey a nível de 5% de significância. Todos os testes foram realizados em software STATISTICA 10.0.

As análises de acompanhamento de fermentação foram submetidas a análise de regressão, análise de variância e teste de comparação de médias ao nível de 5% de significância.

Os resultados dos testes físico-químicos e sensoriais foram submetidos a teste de tukey a nível de 5% de significância. Para a avaliação do teste de ordenação preferencial utilizou-se a tabela para o teste de ordenação, tabela de Newell e McFarlene, conforme Dutcosky (2011).

Os testes de estabilidade foi submetido a análise de variância, análise de regressão e análise de variância e teste de comparação de médias ao nível de 5% de significância.

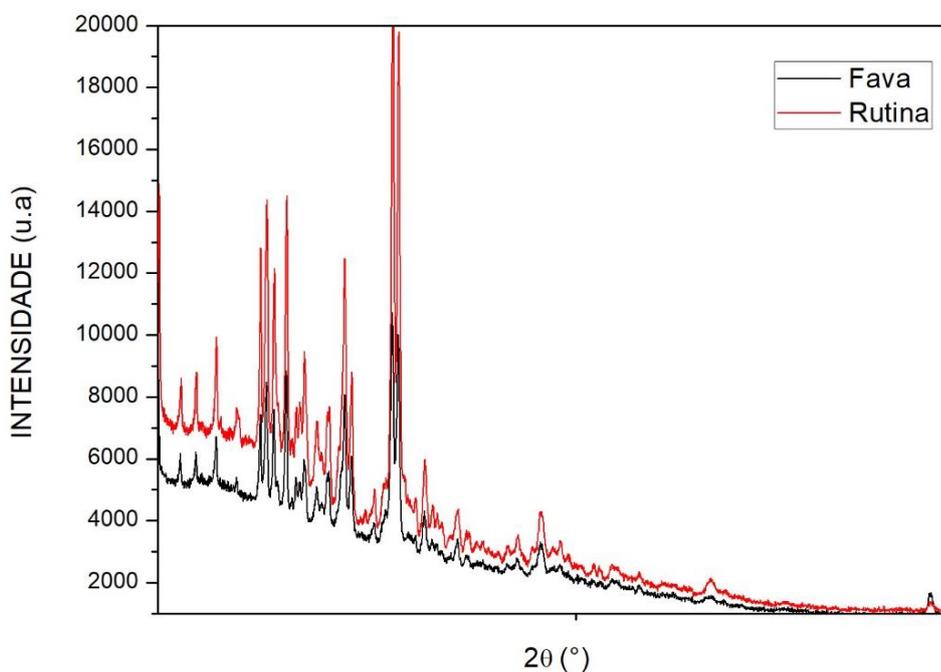
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Obtenção e caracterização física de fava d'anta e rutina purificada

4.1.1 Difração de raios X

A difração de raios x é uma excelente técnica para identificação de fases sólidas cristalinas, uma vez que cada fase sólida cristalina possui um padrão específico de difração permitindo assim a sua identificação (MARTINS, 2018). Diante do exposto, a Figura 12 apresenta o difratograma da Fava D'anta e da Rutina padrão DAB. As semelhanças de picos encontrados nas duas estruturas mostram a similaridade das estruturas cristalinas dos compostos, as intensidades dos picos em 2θ igual a $17,1^\circ$; $22,8^\circ$ e o mais expressivo em $26,7^\circ$ confirmam a característica cristalina dos compostos (MONTES *et al.*, 2016). Corroborando com a farmacopeia brasileira, pela similaridade dos picos de rutina padrão DAB e a apresentada no índice brasileiro (BRASIL, 2010). Posteriormente a cristalinidade dos compostos foi calculada e os resultados estão apresentados na tabela 7.

Figura 12 – Difratograma de raios X da Fava D'anta e da Rutina.



Fonte: Autor, 2019.

Tabela 7 – Índice de cristalinidade das amostras pelo método de deconvolução dos picos.

Amostra	Índice de cristalinidade (%)
Fava D'anta	52,2
Rutina Purificada	61,2

Fonte: Autor, 2019.

De acordo com a tabela 7, tanto a rutina como a Fava d'anta apresentaram uma elevada cristalinidade, sendo que a Rutina Purificada apresentou maior cristalinidade em comparação com a Fava d'Anta. Esse resultado pode ser explicado devido a purificação realizada no composto, garantindo assim uma maior pureza do composto final e uma maior cristalinidade.

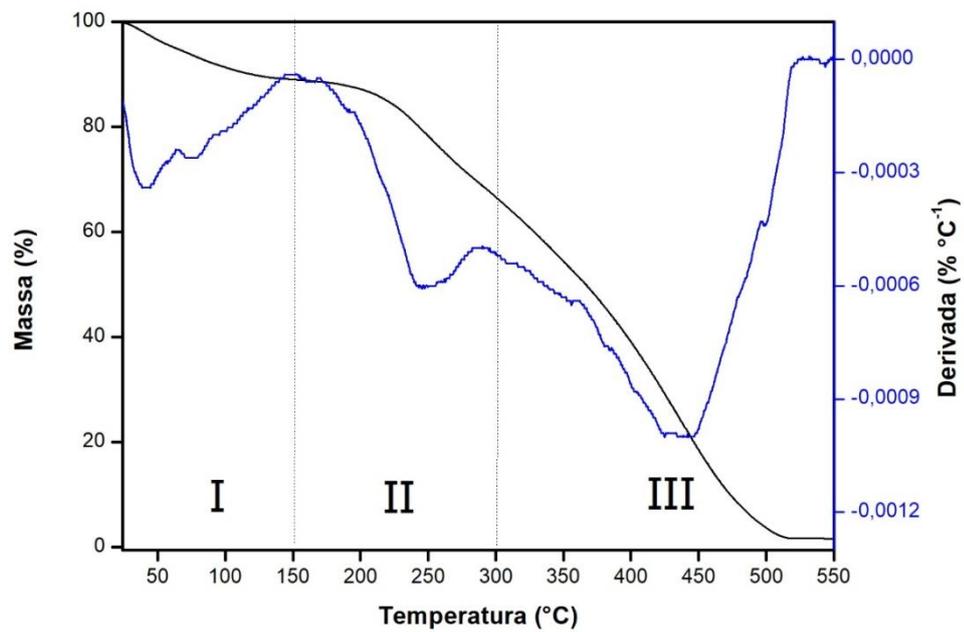
Sólidos com alta cristalinidade geralmente apresentam menor solubilidade em água e substâncias com alto grau de cristalização tem sua solubilidade, dissolução e biodisponibilidade diminuída e para a incorporação em alimentos, substâncias cristalinas têm sua solubilidade em água diminuída, em contraste quando estão no estado amorfo apresentam um aumento na solubilidade (SHARMA, *et al.*, 2009). Ou seja, para a aplicação em produtos alimentícios como é o caso da cerveja é desejável uma substância com menor grau de cristalinidade.

4.1.2 Analise Termogravimétrica (TG)

As curvas de TG/DTG são importantes no estudo da estabilidade e do comportamento térmico dos compostos, assim pode-se determinar o limite de temperatura máxima em que o processamento pode ser realizado sem que ocorra alteração em sua estrutura e possível perda de características funcionais. Assim, o comportamento térmico de compostos é importante quando se aplica tratamentos térmicos em suas possíveis aplicações, como secagem, pasteurização e na previsão e controle das variações de temperatura durante o armazenamento (MURAMATSU *et al.*, 2009).

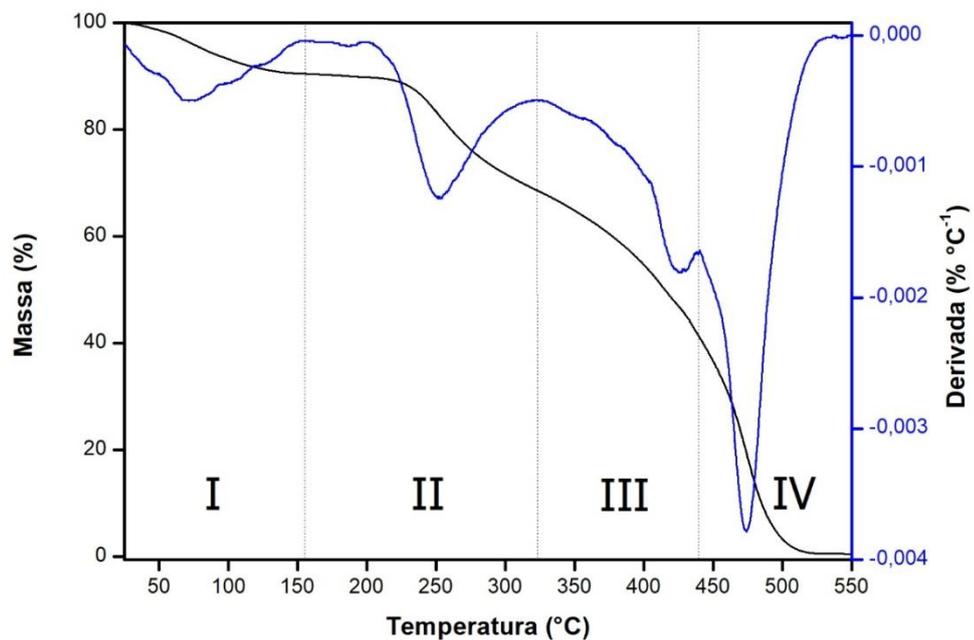
As Figuras 13 e 14 e a tabela 8 mostram as curvas de TG e DTG da Fava D'anta e da Rutina padrão DAB, respectivamente.

Figura 13 – Análise Termogravimétrica e Derivada Termogravimétrica da Fava D'anta.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 14 – Análise Termogravimétrica e Derivada Termogravimétrica da Rutina DAB.



Fonte: Autor, 2019.

Tabela 8 – Resultado da análise das curvas de TG e DTG da Fava D’anta e da Rutina.

Material	Evento Térmico	T _i (°C)	T _m (°C)	T _f (°C)	PM (%)	Resíduo (%)
Rutina DAB	1	25	71	156	9,59	0,58
	2	156	251	322	21,80	
	3	322	422	434	27,25	
	4	434	468	531	40,78	
Fava D’anta	1	25	41	148	10,97	1,70
	2	148	249	290	20,26	
	3	290	437	523	67,07	

Legenda: T_i: Temperatura Inicial; T_m: Temperatura máxima; T_f: Temperatura final; PM: Perda de massa.
Fonte: Autor, 2019.

De acordo com o termograma foi possível observar três eventos principais de perdas de massa da Fava D’anta onde o primeiro ocorreu entre as temperaturas de 25°C a 148°C totalizando uma perda de massa de 10,97%, devido a vaporização da água livre e alguns compostos voláteis presentes na amostra. O segundo evento de composição ocorreu entre 148°C a 290°C com pico de perda de massa em 249°C, totalizando 20,26% de perda de massa podendo está relacionada a decomposição de compostos orgânicos presentes no material analisado, como carboidratos simples, proteínas e lipídeos. O terceiro evento de degradação de massa é caracterizado pela perda de carboidratos complexos como hemiceluloses, celulosas, lignina e galactomanana presentes no material e correspondendo a 67,07% da massa de Fava d’Anta.

O termograma da Rutina padrão DAB apresentou quatro eventos de perdas de massa, sendo que segundo Costa *et al.* (2002), a degradação entre 25 e 290°C é caracterizada pela perda de água do composto, convertendo o composto na forma anidra a partir dessa temperatura. Com isso as perdas de massa dos dois primeiros eventos térmicos são caracterizadas pela perda de água livre (perca igual a 9,59%) e a água de constituição (perca igual a 21,8%), a perda de água de constituição calculada a partir da sua fórmula molecular é igual a 21,53% (QI *et al.*, 2015). A perca mássica do segundo evento próximo a perca teórica indica uma da Rutina pós purificação. O terceiro evento de degradação de massa foi observado entre 322°C a 434°C, totalizando uma perda de massa de 27,25% que está associado a perda de carboidratos na estrutura da molécula da rutina (DE OLIVEIRA *et al.*, 2016). O quarto evento de perca mássica ocorreu entre 434°C a 531°C, com uma perca

mássica de 40,78% estando associada a degradação tardia de alguns componentes moleculares da Rutina.

A rutina apresenta melhor estabilidade térmica em relação a Fava D'anta, devido aos deslocamentos dos eventos térmicas para maiores valores de temperaturas finais e iniciais em cada evento, bem como as temperaturas máximas de cada evento da rutina em comparação com a Fava D'anta. Essa estabilidade térmica pode estar ligada ao aumento da cristalinidade da Rutina, corroborando com os resultados de cristalinidade dos compostos que estão apresentados na tabela 7.

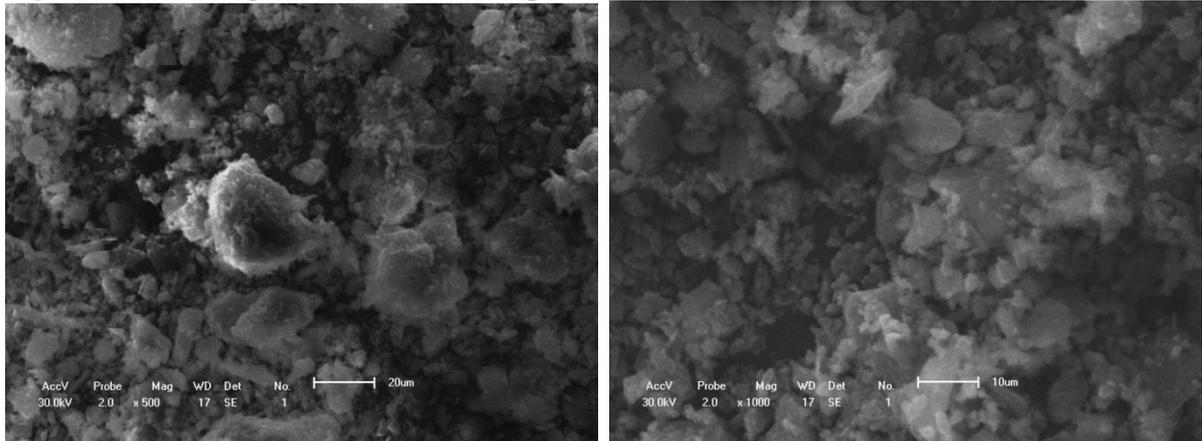
Além disso, o termograma da Fava d'anta possui menos eventos térmicos, se comparados ao da Rutina, isso caracteriza uma maior quantidade de impurezas na amostra da Fava D'anta. Devido a maior quantidade de impurezas e a menor estabilidade térmica da Fava D'anta têm-se a limitação das temperaturas utilizadas nos processos térmicos como secagem, pasteurização e na previsão e controle das variações de temperatura durante o armazenamento (MURAMATSU *et al.*, 2009). Assim, compostos com menor estabilidade térmica têm-se os maiores valores de armazenamento e processamento.

Estes resultados indicam êxito da conversão da fava em rutina com elevado grau de pureza após o tratamento de purificação.

4.1.3 Microscopia eletrônica de varredura e análise de espectrometria por energia dispersiva

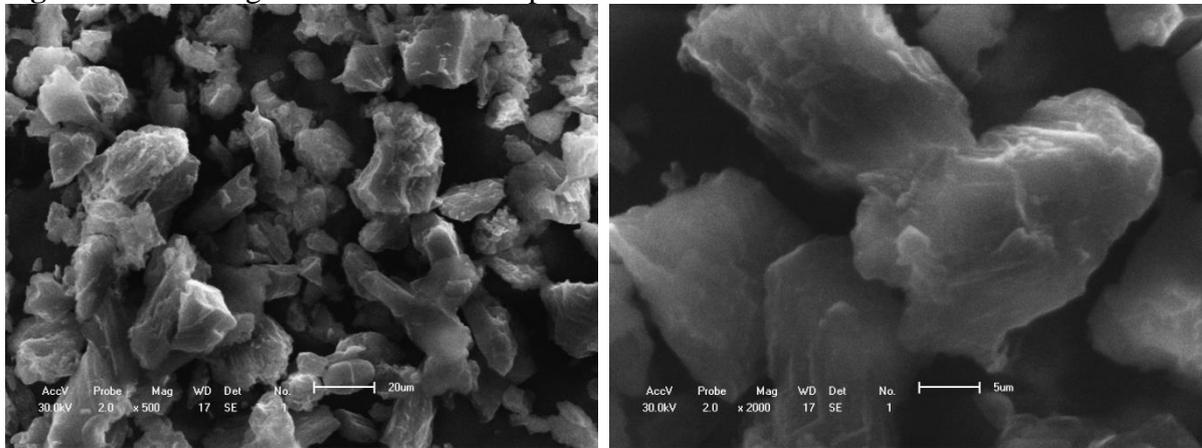
Para se caracterizar a superfícies dos compostos, foram utilizadas as técnicas de MEV e de EDS. A análise morfológica das partículas de Fava D'anta e Rutina foram realizadas através das micrografias apresentadas na Figura 15 e 16. A figura 15 mostra a micrografia da Fava D'anta em pó, A Fava D'anta apresentou morfologia de menor uniformidade, com maior rugosidade superficial e ampla variação no tamanho das partículas. Enquanto na micrografia da Rutina, que está apresentada na figura 16, exibiu morfologia com menor rugosidade superficial e maior homogeneidade no tamanho de partículas. Em outras palavras, a fava d'anta tem uma superfície mais áspera e maior distribuição de tamanhos de partícula enquanto a rutina tem uma superfície mais lisa e uniforme. Esse resultado indica que o método de purificação foi efetivo na retirada de impurezas superficiais de menor cristalinidade, apresentando partículas de rutina com maior uniformidade e menos rugosa. Corroborando com os resultados de TG e DRX.

Figura 15 – Micrografias da estrutura superficial da Fava D’anta.



Fonte: Autor, 2019.

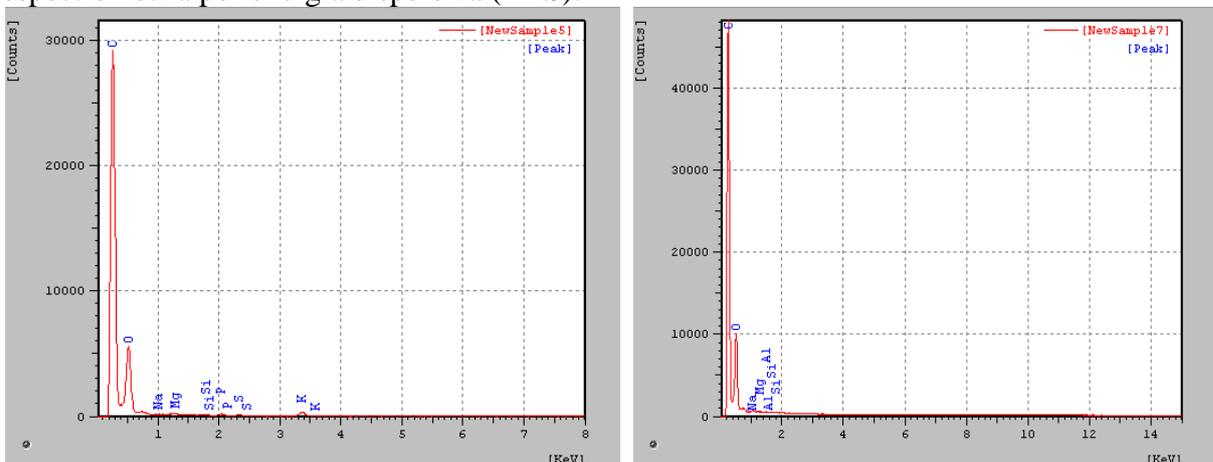
Figura 16 – Micrografias da estrutura superficial da Rutina DAB.



Fonte: Autor, 2019.

Os espectros de EDS mostrados na figura 17 revelam os autos índices de carbono e oxigênio que são características de materiais orgânicos, como a rutina e a Fava D’anta.

Figura 17 – Análise da (a) Fava D’anta e da (b) Rutina DAB por meio de análise espectrometria por energia dispersiva (EDS).



Legenda: Fava D’anta e Rutina DAB, respectivamente.

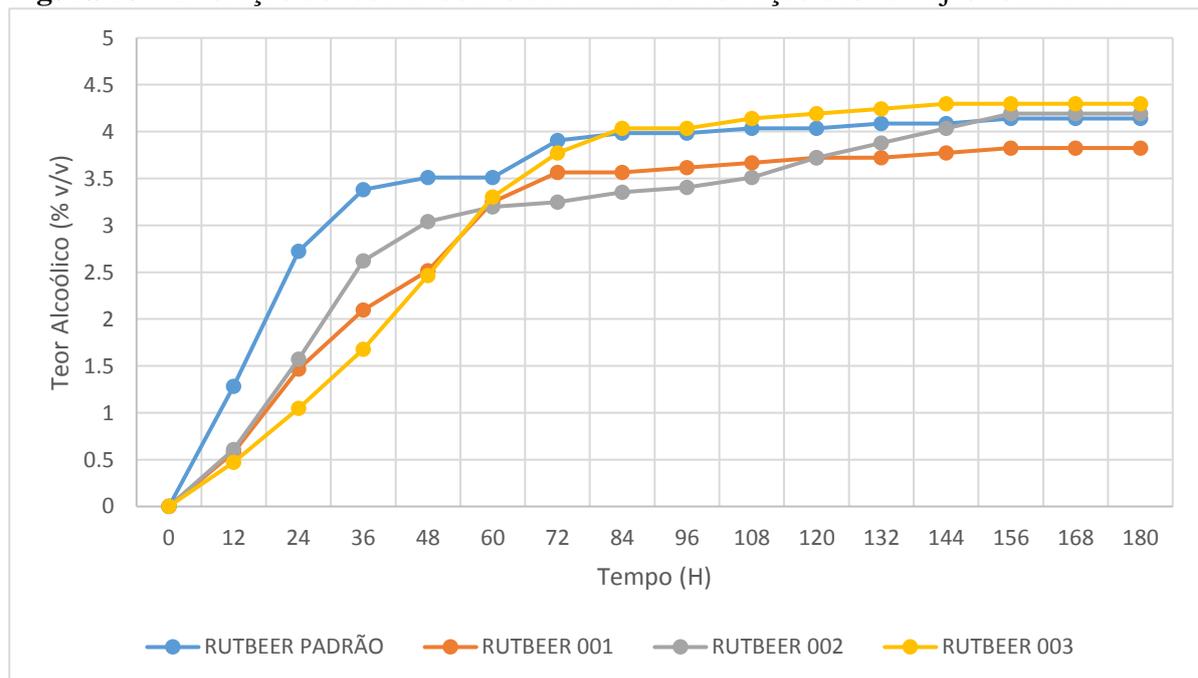
Fonte: Autor, 2019.

4.2 Acompanhamento da fermentação de cervejas especiais com fava d'anta

A principal transformação durante o processo fermentativo é a conversão dos açúcares em etanol e CO₂, obtida no metabolismo da fonte de carbono pela levedura. A forma mais usual de acompanhamento desse processo é por observações realizadas nas seguintes variáveis: consumo de substrato, formação de produto e concentração de células. A adição de produtos podem interferir no desenvolvimento do microrganismo e sua atividade fermentativa. Deste modo foi realizado um processo fermentativo a temperatura constante, 15° C e ingredientes idênticos variando apenas a forma de incorporação do flavonoide rutina no processo.

A figura 18 apresenta o acompanhamento do teor alcoólico durante as 180 horas de fermentação das cervejas com acréscimo de fava e de rutina. O teor alcoólico é um dos atributos mais esperados pelos consumidores de cerveja no mercado brasileiro.

Figura 18 – Evolução do teor alcoólico durante a fermentação das cervejas com rutina.



Fonte: Autor, 2019.

De acordo com os resultados apresentados na figura 18, nota-se que o melhor desempenho inicial é encontrado na cerveja padrão, mas todas as cervejas apresentam mesmo tempo de estabilização, todos em torno de 144 horas ou 6 dias de processo. O teor alcoólico é resultado da fermentação anaeróbica, então fatores como concentração de açúcares, pH, concentração de microrganismos podem interferir diretamente nessa produção.

As primeiras 48 horas do processo a fermentação é chamado de fermentação tumultuosa, onde a característica principal é a alta atividade fermentativa graças à quantidade de substrato elevada, nesse ponto a produção de etanol teve diferença significativa entre as amostras analisadas. As RUTBEER 001, 002 e 003 tiveram uma produção de etanol menor que a RUTBEER PADRÃO, isso pode se caracterizado pelo alto teor antioxidante do composto, podendo ter inibido a fermentação da massa de levedura.

Araújo (2016) acompanhou a fermentação de uma cerveja adicionado de melão de caroá, onde o mesmo conseguiu atingir valores máximos de 5,7%. O mosto puro malte possui maltose, maltotriose, sacarose, glicose, que são açúcares fermentescíveis, e dextrinas, que não são metabolizadas pela levedura. Vale ressaltar que a parte não fermentável pode chegar a 25% do conteúdo de açúcares (BRIGGS *et al.*, 2004).

Vidgren (2010) afirma que mostos com gravidade original de 11 a 12°Graus platô (13°Brix) resultam em cervejas de teor alcoólico de 4 a 5%.

Os resultados apresentados na figura 19 caracterizam o desenvolvimento da levedura durante o processo fermentativo das cervejas. A fase lag é descrita até 36 horas de fermentação, a fase estacionária de 36 a 72 horas e a partir disse temos um comportamento de autólise celular característico da fase de decréscimo. A incorporação de rutina, tanto na forma purificada como na adição de Fava d'anta.

Figura 19 – Concentração de levedura durante o processo fermentativo.



Fonte: Autor, 2019.

Han *et al.*, (2016) caracterizou cervejas com malte 6 fileiras proveniente da Coreia do Sul com adjuntos industriais durante o processo fermentativo onde a levedura não diferiu estatisticamente durante a fermentação primária, obtendo valores de máximo de 6,82 cel/mL.

A figura 19 mostra que o desenvolvimento máximo na fase de crescimento ficou entre 3,32 e 3,91 g/L, naturalmente ocorreu uma estabilização e uma redução gradual da concentração de leveduras, pois ocorre autólise, lise celular ou rompimento, provocando ação das enzimas intracelulares. Nessa fase, há a floculação de leveduras do mosto, juntamente com o decréscimo da quantidade de açúcares fermentáveis, que pode ser observado na figura 18.

Segundo Tapas *et al.*, (2008) flavonóis possuem uma ação antimicrobiana, principalmente em organismos com parede celular, as quais os antioxidantes podem causar danos a ligação polissacarídeo-peptidoglicano. Podemos observar um paralelo em junção da figuras 19, 20 e 21 em que a contagem de leveduras e a produção de etanol nas cervejas produzida aumenta durante a fermentação, o substrato diminui, o que segundo Munroe (2006) caracteriza uma típica fermentação cervejeira.

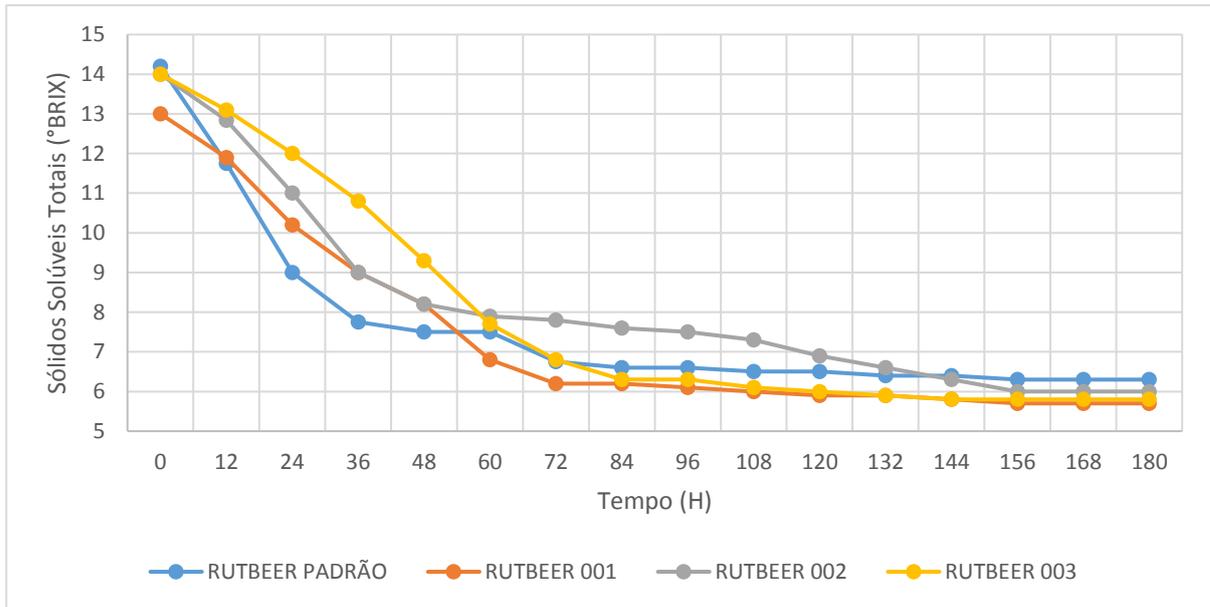
No término da fermentação houve uma estabilidade de leveduras em suspensão, a amostra rutbeer 002 obteve resultados maiores em relação as outras amostras, isso pode estar relacionado a adição de rutina diretamente na fermentação.

Na Figura 20 é apresentado o consumo de sólidos solúveis totais durante o processo fermentativo. A amostra padrão até 48 horas mostrou a maior degradação, mas ao final da etapa fermentativa todas as cervejas obtiveram taxa de sólidos solúveis totais em torno de 6°Brix.

A figura 21 apresenta os resultados de pH durante o processo fermentativo das cervejas com a incorporação de rutina e fava d'anta. A amostra rutbeer 002, a qual a rutina purificada foi adicionada nesse processo fermentativo, o pH do mosto teve uma diferença no pH inicial de fermentação, mas após a fermentação os valores não diferiram estatisticamente da cerveja padrão.

O pH da cerveja padrão obteve estabilidade após 48 horas, enquanto as amostras com acréscimo de rutina obtiveram essa estabilidade com 100 horas de fermentação, mas todos os valores estão em níveis que inibem a contaminação bacteriana.

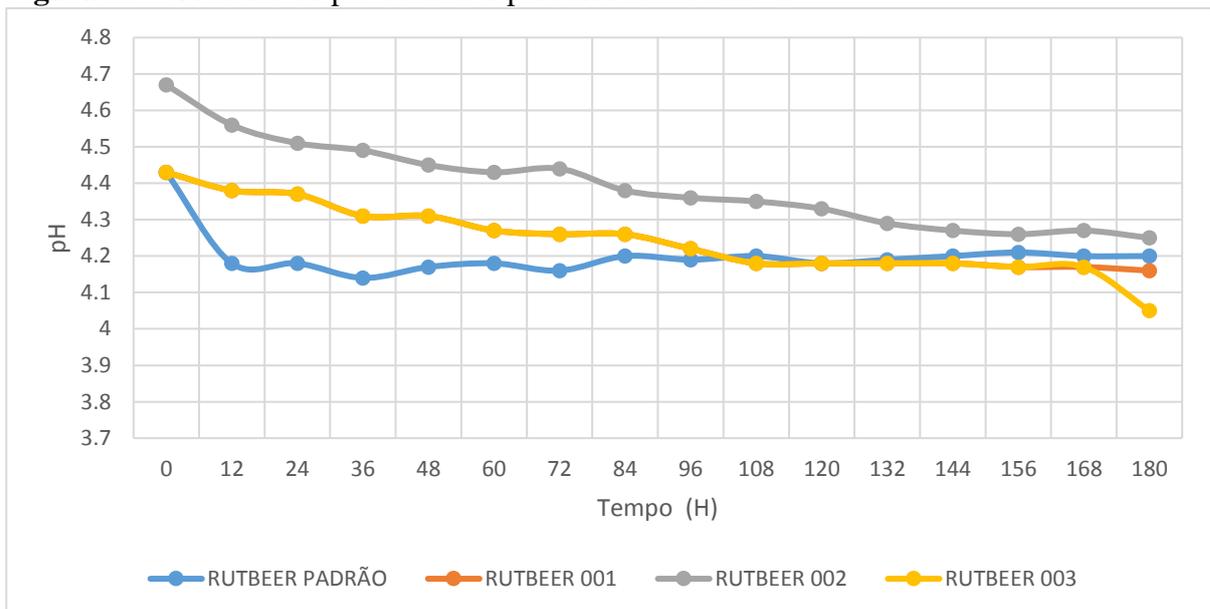
Figura 20 – Teor de sólidos solúveis totais durante o processo fermentativo.



Fonte: Autor, 2019.

Os ácidos orgânicos são compostos excretados pelas células de levedura, sintetizados através da biossíntese de aminoácidos e do metabolismo de carboidratos, assim como sua formação está associada ao ciclo incompleto do ácido cítrico. A produção destes ácidos é influenciada pela cepa da levedura e a velocidade da fermentação, uma velocidade mais lenta implica em maiores valores de pH. A produção de alguns ácidos orgânicos podem ser reaproveitados durante o processo fermentativo (BRIGGS *et al.*, 2004; WILLAERT, 2007).

Figura 21 – Controle do pH durante o processo fermentativo.



Fonte: Autor, 2019.

O pH das cervejas obtiveram valores entre 3,93 e 4,68, valores encontrados em diferentes fases da fermentação do produto. Almeida e Silva (2005) sugerem que a faixa de pH de 3,89 a 4,47 possibilita uma fermentação suficiente, além de inibir bactérias indesejáveis. Manzano et. al. (2005) corroboram com essa afirmação, aumentando ainda mais a faixa de estabilidade de pH, variam de 3,8 a 4,7. A redução do pH ocorre devido a produção de ácidos orgânicos, aumentando a estabilidade do meio, nota-se que no decorrer do processo fermentativo o pH em todas as amostras teve um comportamento decrescente até as 144 horas, quando houve a estabilização.

Com base nos resultados apresentados nas figuras 18, 19, 20 e 21, os parâmetros fermentativos mostram que a adição de rutina tanto no fruto da faveira, quanto na sua forma purificada quando adicionados no processo de fervura do mosto não apresentam diferença no desenvolvimento do processo. Enquanto a rutina na sua forma pura, para ser solubilizada durante a fermentação pode interferir negativamente quanto o percentual de levedura presentes no mosto, mas no que diz respeito ao conjunto da fermentação, não interfere no processo.

4.3 Desenvolvimento de cervejas especiais com rutina e fava d'anta

As cervejas depois de fermentadas, maturadas, engarrafadas e pasteurizadas foram submetidas a análises de características físico-químicas que estão representadas na tabela 9. Foram utilizadas análises que a legislação preconiza para o produto ser caracterizado como cerveja e alguns parâmetros que indicam a qualidade do produto.

Os ácidos orgânicos e inorgânicos presentes nas cervejas não diferiram estaticamente entre si para as cervejas com adição de rutina e fava, mas vale resaltar que cerca de 40% são ácidos voláteis esses ácidos tem importância primordial, pois são eles que carregam os compostos responsáveis pelo *flavour* da cerveja, onde eles são provenientes do malte, do lúpulo e alguns sintetizados pelas leveduras. A Rutbeer padrão, obteve um menor de valor de acidez que pode ter sido ocasionado pela falta de incorporações, corroborando com o resultado encontrado por Curi (2009), que estudou a cevada com adjunto de malte.

Pinto (2015) estudando adição de frutas como adjunto, obteve resultados que corroboram com o estudo. Pai *et al.*, (2015) caracterizou 15 amostras de cerveja comercializadas na Índia, de diferentes estilos, onde a acidez total 0,11 % a 0,22%, valores semelhantes ao encontrados neste estudo.

O pH e a acidez total são considerados os dois critérios mais importantes pelas indústrias cervejeiras que influenciam fortemente o saneamento e outros parâmetros fisiológicos como cor, estabilidade, sabor, estabilidade biológica e química. A indústria cervejeira geralmente prefere o pH em uma faixa de 3,90 a 4,20 para cervejas leves que também desempenham um papel importante durante o processo de fermentação que inclui a eficácia da enzima, utilização de lúpulo, coagulação de proteínas e monitorar a atividade de levedura na fermentação de cerveja limpa. Cervejas comercializadas na Tanzânia relataram ter pH e acidez total na faixa de 3,9 a 5,3 e 0,28 a 0,38%, respectivamente (TÜSEKWA *et al.*, 2000; PAI, *et al.*, 2015).

Jardim *et al.*, (2018) estudou as características de 6 receitas de cervejas artesanais comercializadas no Brasil, com as India Pale Ale com pH de 3,88, tendo o valor mais baixo, enquanto as amostras menos lupuladas obtiveram valores entre 4,12 e 4,40, corroborando com os valores encontrados neste estudo.

Os resultados de pH apresentados na tabela 9, mostram que a faixa de pH das cervejas foram de 4,07 a 4,25. Sendo que apenas a RUTBEER 003, obteve um valor que diferiu estatisticamente a 5%. Grannato *et al.*, (2010) analisou 29 amostras de cervejas artesanais brasileiras e entrou pH variando de 4,13 a 4,96, valores dentro da faixa do presente estudo.

A Convenção Européia de Cervejeiros – EBC, disponibiliza uma escala colorimétrica aceita mundialmente, em que se pode classificar as cervejas de acordo com seu tipo e se a coloração fica dentro dos padrões, no caso das amostras de RUTBEER'S seria interessante que a coloração tendesse para o amarelo ou dourado que na escala está na faixa de até 20 EBC, pois a aceitação cultural dos consumidores está nesta faixa.

A densidade não diferiu estatisticamente, ela é medida indireta da quantidade de açúcares presentes na cerveja e quanto mais próximo de 1,000, menor é a quantidade, esse fator está indiretamente ligado a teor alcoólico e pode ser utilizado com parâmetro para validar os dados do processo.

Nota-se que quanto menor a densidade, maior foi o teor alcoólico da cerveja, pois a densidade é uma medida indireta da quantidade de açúcares que estão presentes no meio, logo as amostras que obtiveram o maior teor alcoólico, utilizaram o açúcar presente na cerveja como matéria-prima para a fermentação das leveduras.

Tabela 9 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos nas Cervejas com rutina e teste de tukey.

Análises	RUTBEER PADRÃO	RUTBEER 001	RUTBEER 002	RUTBEER 003
Acidez Total (mg/L)	27,48 ^a ± 1,01	51,68 ^b ± 0,88	51,32 ^b ± 0,55	49,14 ^b ± 0,74
Acidez Volátil (mg/L)	13,36 ^a ± 0,68	23,25 ^b ± 0,46	23,09 ^b ± 0,63	22,11 ^b ± 0,49
Cor (EBC)	16	12	5	18
Densidade	1,025 ^a	1,008 ^a	1,011 ^a	1,019 ^a
Extrato Primitivo (%)	14,78 ^a ± 0,57	14,49 ^a ± 0,34	15,23 ^b ± 0,62	14,38 ^a ± 0,49
Extrato Real (%)	5,02 ^b ± 0,11	3,26 ^a ± 0,08	3,8 ^a ± 0,17	5,23 ^b ± 0,14
Extrato Aparente (%)	4,93 ^b ± 0,08	2,42 ^a ± 0,14	3,31 ^a ± 0,06	5,17 ^c ± 0,13
pH	4,17 ^b ± 0,02	4,17 ^b ± 0,01	4,25 ^b ± 0,03	4,05 ^a ± 0,01
Açúcares Totais (g/100g)	2,16 ^b ± 0,44	1,44 ^a ± 0,75	1,68 ^a ± 0,51	2,25 ^b ± 0,36
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	7,5 ^b ± 0,1	5,9 ^a ± 0,1	5,9 ^a ± 0,1	7,8 ^b ± 0,1
Teor Alcoólico (% v/v)	5,01 ^a ± 0,12	5,87 ^b ± 0,06	6,01 ^b ± 0,14	4,78 ^a ± 0,23

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, a nível de 95% de confiança.
Fonte: Autor, 2019.

A Figura 22 mostra as cervejas incorporadas de fava e rutina, parâmetros como Extrato real, Extrato primitivo, Extrato aparente e pH validaram as cervejas como caracterizadas no seguimento premium, ou puro malte (BRASIL, 2009). Estes resultados estão em conformidade com Pinto (2015) que obteve extrato real entre 3,2 a 4,8% em uma cerveja Fruit Beer com adição de acerola e abacaxi, e com Do Rio (2013) que obteve extrato real entre 5,06 a 5,15% na cerveja em que foi utilizado erva-mate como substituto parcial do lúpulo.

Figura 22 – Cervejas com incorporação de fava d'anta e rutina.



Fonte: Autor, 2019.

Segundo a legislação brasileira, o extrato primitivo refere-se à quantidade de substâncias dissolvidas no mosto e que dão origem à cerveja, sendo expresso em percentagem em peso. Como a taxa de extrato primitivo se refere à quantidade de ingredientes diferentes da água utilizados na preparação da cerveja, incluindo o carboidrato (açúcar), nota-se que a adição das pequenas frutas elevou o extrato primitivo (BRASIL, 2009).

Donadini e Porretta (2017), Gomez-Corona *et al.*, (2016) estudando o comportamento do consumidor de cervejas, afirmam que o teor alcoólico da bebida é a primeira impressão que os consumidores procuram no rótulo. Logo as amostras de RUTBEER obtiveram valores expressivos de teor alcoólico se comparados com as marcas comerciais brasileiras, mas ainda dentro de um padrão aceitável para caracteriza-lá como leve e refrescante.

De acordo com estudos realizados por Bamforth (2009), muitas cervejas têm teor alcoólico aproximadamente na faixa de 3% a 6% (v/v). As amostras RUTBEER variaram de 4,78 a 6,01% (v/v), sendo que as amostras RUTBEER 001 e 002 apresentaram um teor alcoólico mais elevado, juntamente com maiores percentagens de extrato primitivo. A RUTBEER 002 obteve maiores percentuais de açúcares convertidos do malte em sua composição, essa diferença de valores se deve ao processamento que mesmo sendo

padronizado, ainda é feito de maneira artesanal, causando assim essa variação.

Han *et al.*, (2016) caracterizou cervejas com malte 6 fileiras proveniente da Coreia do Sul com adjuntos industriais obteve valores 3,83 a 4,57% (v/v), valores abaixo dos encontrados neste estudo.

Manzoli (2015) estudou a adição de suco de laranja concentrado como adjunto de malte e obteve uma cerveja comercial com 5,68 % de teor alcoólico, garantindo uma cerveja com teor alcoólico mais alto e característica seca. Já Pinto (2015) utilizando suco de acerola e abacaxi como adjunto garantiu cervejas com teor alcoólico menor, ácidas e adocicadas. Vogel (2017) encontrou cervejas com características frutadas e teor alcoólico abaixo de 5%.

A maioria dos álcoois formados durante a fermentação da cerveja é ligado à levedura, pela sua síntese proteica, eles são formados a partir de ceto-ácidos que podem ser formados por transaminação ou desaminação dos aminoácidos no mosto ou sintetizados a partir de carboidratos de mosto. Estes ceto-ácidos são então convertidos em álcoois superiores por descarboxilação e redução (BAMFORTH, 2005).

No entanto, a cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais abundantes consumidas em todo o mundo e a presença de álcool fornece proteção contra várias doenças cardíacas e também, juntamente com a presença de polifenóis, pode reduzir o estresse oxidativo produzido por vários processos metabólicos e condições de estresse.

O teor de açúcares na cerveja está intimamente ligado a quantidade de álcool e eficiência da levedura, na cerveja. Os resultados de açúcares totais apresentados na tabela 9 são consequência das fermentações apresentadas no item 4.1 deste trabalho.

Os valores encontrados diferiram estatisticamente, onde a amostras RUTBEER PADRÃO e RUTBEER 003 obtiveram maiores valores, pois a levedura só pode utilizar açúcares selecionados de menor peso molecular, como frutose, glicose, maltose, sacarose e maltotriose. Oligossacarídeos contendo mais de três unidades de glicose não podem ser fermentados. Portanto, quando a fermentação é permitida, apenas pequenas quantidades de açúcares de menor peso molecular são encontrados na cerveja.

Pai *et al.*, (2015) encontrou valores de açúcares entre 0,44 a 2,68%, semelhantes ao encontrado neste estudo que variou de 1,44 a 2,25%, enquanto Jardim *et al.* (2018) apresentou valores de 0,9 a 2,08 % e valores de Sólidos Solúveis Totais de 6,75 a 10 °Brix, valores dentro da faixa encontrada por Moreira-Nunes *et al.*, (2016), de 5,4 a 9 °Brix, e os encontrados no presente estudo.

A tabela 10 mostra os resultados para as análises microbiológicas, os valores de bolores e leveduras, coliformes totais, coliformes termotolerantes e e. Coli obtiveram valores

minimos em todas as formulações de cerveja desenvolvidas. Este resultado se deve ao processo de pasteurização das cervejas, bem como através do controle higiênico-sanitário durante o processamento, de modo a evitar a contaminação do produto ao longo de seu desenvolvimento.

Tabela 10 – Resultados das análises microbiológicas das cerveja com Rutina e Fava d’anta.

Análises	RUTBEER PADRÃO	RUTBEER 001	RUTBEER 002	RUTBEER 003
Bolores e Levedura (UFC/mL)	≤10	≤10	≤10	≤10
Coliformes Totais (NMP/mL)	≤1	≤1	≤1	≤1
Coliformes Termotolerantes (NMP/mL)	≤1	≤1	≤1	≤1
E.coli (NMP/mL)	≤1	≤1	≤1	≤1

Fonte: Autor, 2019.

A cerveja é considerada um meio adverso para a contaminação bacteriana, ela possui características como concentração de etanol, compostos bioativos provenientes das matérias-primas, elevada concentração de CO₂, baixa concentração de O₂ e baixo pH (DRAGONE *et al.* 2007).

Na tabela 11 são apresentados os resultados dos atributos sensoriais obtidos na escala hedônica. A Rutbeer padrão obteve os melhores resultados se comparados as cervejas com adição de Fava e Rutina. Mas todos os resultados obtiveram notas maiores que 5 “nem gostei, nem desgostei” do produto, que caracteriza a area de aceitação sensorial (DUSCOTKY, 2011).

As médias para o atributo cor da cerveja com rutina obtiveram médias dentro da faixa de aceitabilidade positiva, corresponde a notas entre 7 “gostei moderadamente” e 8 “gostei muito” (Figura 23), não diferindo estaticamente entre si. Esse resultado se deve a coloração da cerveja está entre o amarelo e o dourado, cores que são chamativas e também comuns ao olhar do consumidor em geral.

Figura 23 – Cerveja com adição de rutina durante o processo de fervura.



Fonte: Autor, 2019.

O atributo aroma apresentou o mesmo comportamento da cor, variando apenas as médias que ficaram entre 6 “gostei ligeiramente” e 7 “gostei moderadamente”, as amostras de RUTBEER, conseguiu descrições como cítrico, frutado, refrescante, dentre outros.

No atributo sabor, apenas a RUTBEER 002 variou estatisticamente, isso se deve pela forma de adição na sua composição, pois a mesma foi adicionada pura direto na dorna de fermentação, o que garantiu um sabor característico e com um amargor acentuado, enquanto as amostras de RUTBEER 001 e RUTBEER 003 obtiveram médias neste atributo entre 6 “gostei ligeiramente” e 7 “gostei moderadamente”, caracterizando produto bem aceito no teste sensorial. Cooper (2013) sugere que produtos para serem lançados no mercado, necessitam de uma aprovação de todos os itens dentro da faixa de aceitabilidade positiva, ou seja, médias variando de 5 a 9.

A aceitabilidade do corpo das cervejas por parte dos provadores produziu médias que variaram de 6,45 (RUTBEER 002) a 7,16 (RUTBEER 001). Garantindo assim um produto com características aceitáveis, a quantidade de extrato primitivo e forma de adição são fatores que precisam ser levando em conta para a formulação de ideia lógica para a RUTBEER 002 se a única que difere estatisticamente a 5% de probabilidade.

A aceitação global das cervejas variou de 5,82 para a amostra RUTBEER 002 a 6,85 obtido pela amostra RUTBEER 001. Apresentando diferença significativa entre elas, apenas neste atributo a amostra RUTBEER 003 não apresentou diferença perante as demais. Diante desses resultados podemos notar que a forma de incorporação da rutina no processo fervura não possui diferença sensorial significativa, mas quando incorporada na etapa de

fermentação a cerveja apresenta faixa de aceitação menor, ou seja, onde o flavonoide é incorporado é crucial para seu aumento de média e aceitação sensorial.

Tabela 11 – Valores médios dos atributos sensoriais das cervejas com Rutina e Fava d’anta.

Hedônica	RUTBEER PADRÃO	RUTBEER 001	RUTBEER 002	RUTBEER 003
Cor	7,8 ^a	7,55 ^a	7,35 ^b	7,21 ^b
Aroma	7,88 ^a	6,47 ^c	6,78 ^b	6,75 ^b
Sabor	7,7 ^a	6,58 ^b	4,85 ^c	6,21 ^b
Corpo	7,9 ^a	7,16 ^b	6,45 ^d	6,93 ^c
Aceitação Global	7,9 ^a	6,85 ^b	5,82 ^c	6,58 ^b

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, a nível de 95% de confiança.

Fonte: Autor, 2019.

Carvalho (2009) utilizou banana como aromatizante, constatou que a cerveja produzida foi bem aceita, quando comparada a uma amostra comercial. Santos (2011) e Hendges (2014) obtiveram cervejas com notas entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, com cervejas feitas com arroz preto e quinoa, respectivamente.

Batista (2014) obteve notas na faixa de rejeição hedônica com cervejas adicionada de pinhão. Diferente desta pesquisa que obteve valores de aceitação, que varia desde o “gostei muito” a “gostei ligeiramente”.

Na tabela 12 estão apresentados os valores médios do teste de atitude de compra, que simula a titude consumidor casa o produto estivesse na gôndola do supermercado.

Os valores encontrados mostram a diferença da atitude compra, em que a amostra RUTBEER 001 e 003 não diferem estatisticamente e possuem uma média sensorial satisfatória, garantindo assim seu potencial mercadológico.

Tabela 12 – Valores médios de atitude de compra das cervejas com Rutina e Fava d’anta.

	RUTBEER PADRÃO	RUTBEER 001	RUTBEER 002	RUTBEER 003
Atitude de Compra	4,29 ^a	3,56 ^b	2,85 ^c	3,33 ^b

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, a nível de 95% de confiança.

Fonte: Autor, 2019.

A tabela 13 apresenta o resultado da preferência dos consumidores quando comparadas apenas as amostras de RUTBEER com adição de rutina o fava d’anta. Nota-se

que as amostras que RUTBEER 001 e 003, obtiveram os melhores resultados e não diferiram esta estatisticamente entre si, podemos observar com esse resultado que o processo no qual os flavonoides são solubilizados é mais importante que a matéria-prima para a preferência dos consumidores.

Tabela 13 – Resultado do Teste de Ordenação-preferência das cervejas com Rutina e Fava d'anta.

Comparação	Soma das Ordens	Diferenças significativas*
RUTBEER 001; RUTBEER 002; RUTBEER 003	75 31 74	001 – 002 = diferem entre si 001 – 003 = não diferem entre si 002 – 003 = diferem entre si

*De acordo com a tabela para teste de ordenação, Tabela Newell e McFarlane, a diferença mínima de respostas (DMS) para estabelecer diferença significativa, ao nível de 5% de significância, para três amostras e 60 julgadores é de: 26 respostas.

Fonte: Autor, 2019.

A Figura 24 indica o momento de aplicação do teste de ordenação-preferência, em que as 3 amostras contendo a adição do composto são apresentadas ao provador, devidamente codificadas.

Figura 24 – Teste de ordenação-preferência.



Fonte: Autor, 2019.

A tabela 14 apresenta o resultado da análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE, onde foi possível quantificar rutina, isoquercitrina e kaempferol através de comparação com solução padrão.

Tabela 14 – Valores médios dos flavonoides identificados por CLAE nas cervejas com Rutina e Fava d’anta.

BIOATIVOS	RUTBEER PADRÃO	RUTBEER 001	RUTBEER 002	RUTBEER 003
Rutina (mg/100mL)	-	13,24	7,02	32,44
Isoquercetrina (mg/100mL)	-	1,28	2,99	10,07
Kaempferol (mg/100mL)	-	8,96 x10 ⁻⁴	-	0,2895

Fonte: Autor, 2019.

Se toda a rutina adicionada na cerveja fosse solubilizada, obteríamos uma concentração de 50 mg/100mL de rutina na cerveja, através dos diferentes métodos de incorporação e diferentes processos. Isso desprezando fatores como perda na filtração, coeficiente de solubilização da rutina em ambiente hidroalcoólico, dentre outros. Para que o produto que tenha a rutina possa garantir sua alegação, ele deve conter entre 10 a 50 mg/100mL de produto.

Nunes *et al.*, (2018) estudou os compostos bioativos da *Dimorphandra Gardneriana* Tulasne, encontrando teores de flavonoides 38,87 mg/g. Quando incorporadas a um produto, as perdas são significativas durante o processo, principalmente pela característica cristalina da fava d’anta. A cerveja ao qual teve a fava incorporada obteve resultados expressivos, se comparados a RUTBEER 002, mas seu rendimento foi menor que adicionando a rutina já purificada e padronizada.

Pai *et al.*, (2015) afirma cerveja contém uma variedade de polifenóis que podem ser importantes por sua estabilidade química, que inclui flavonóides prenilados, ácidos fenólicos, fenóis simples, flavanóis, hidroxycumarinas, flavonas. Granato *et al.* (2011) analisou a teor de flavonoides totais de vinte nove amostras comerciais de cervejas artesanais brasileiras de diferentes escolas, dentre elas cervejas Lager e Brown Ale, onde os valores variaram de 23,12 a 49,14 mg.L⁻¹ para as Lager e 98,72 a 171,12 mg.L⁻¹ para as Brown Ale. Para motivo de comparação, os resultados apresentados na Tabela 14 são maiores que os encontrados nas amostras comerciais apresentadas, mesmo o presente estudo quantificando apenas a Rutina e seus isômeros.

Piazzon *et al.*, (2010) determinou a atividade antioxidante de cervejas italianas, Moreira-Nunes *et al.* (2016) analisou das cervejas artesanais comercializadas no Brasil, Zhao *et al.* (2010) e Zhao *et al.*, (2013) analisaram as cervejas comerciais chinesas, encontrando valores diversos, devido a diversas características de processamento e matérias-primas utilizada nas formulação de cerveja ao redor do mundo, garantindo assim que a cerveja possui atividade antioxidante.

Ducret *et al.*, (2017), estudou a incorporação de goji berries, em diferentes fases do processo e de diferente formas, em cerveja Amber Ale encontrou valores de rutina variando de 0,0 a 23,46 mg.L⁻¹, valores bem abaixo dos encontrados nas cervejas incorporadas de rutina provenientes da Fava d'Anta. Achilli, Cellerino e Gamache (1993) encontraram concentrações de 16,4 mg.L⁻¹ de kaempferol e 1,8 mg.L⁻¹ de rutina em cervejas de fermentação espontânea.

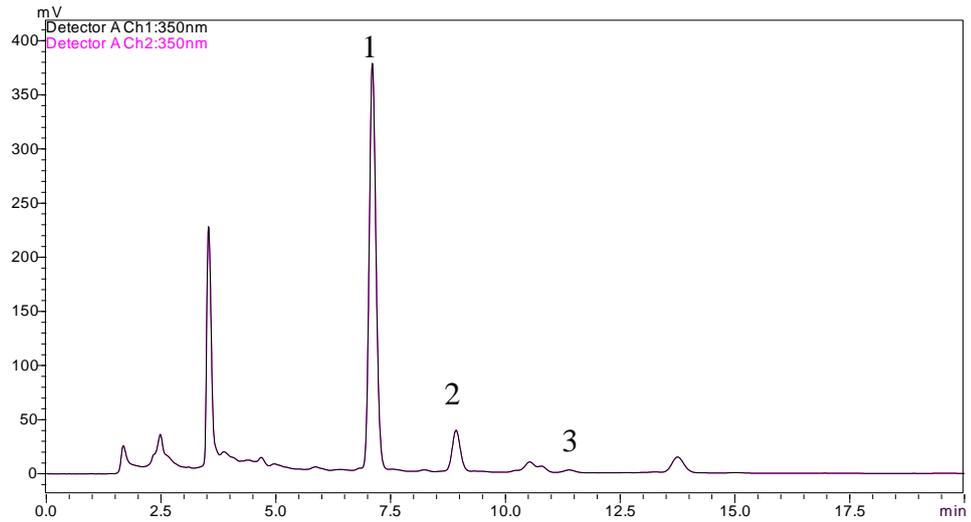
Os compostos fenólicos estão diretamente relacionados com a qualidade físico-química e sensorial (sabor, aroma, cor), estabilidade coloidal, conservação da cerveja e contribuem de forma benéfica para a saúde humana (PIAZZON *et al.*, 2010, GERHÄUSER, 2005, POLAK *et al.*, 2013).

Perrone *et al.*, (2012) observou que adicionando café torrado as cervejas de características Amber Ale aumentam seu teor antioxidante.

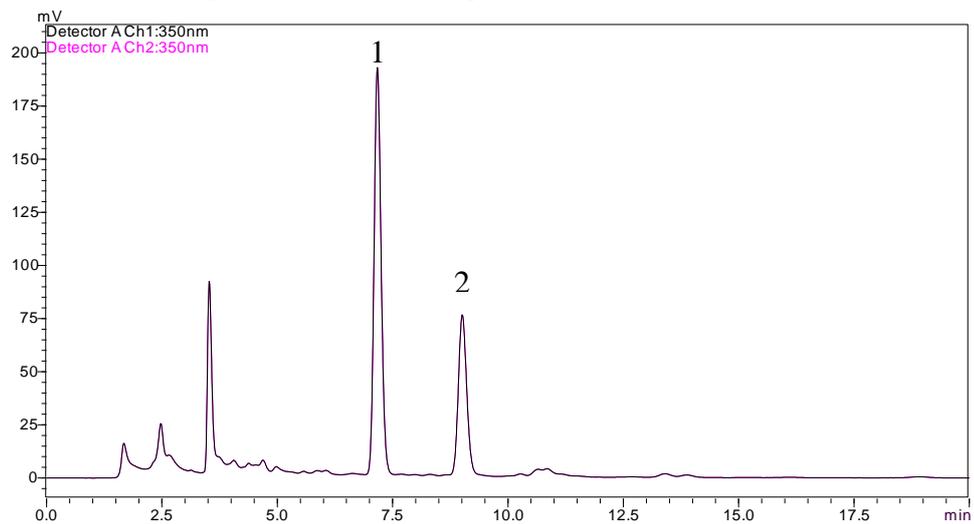
Os valores da tabela 14 mostram que a amostra de RUTBEER que obteve o menor resultado de solubilização, foi a 002 (Figura 26), garantindo valores dentro da funcionalidade se levarmos em consideração a quantificação totais de flavonas, somando-se dará 9,99 mg/100mL de cerveja. Dando uma taxa de solubilização de 19,998%, mostrando que a solubilização em soluções hidroalcoólicas possui uma eficiência baixa comparada as outras amostras da pesquisa.

A amostra RUTBEER 001 (Figura 25), cerveja com adição de fava d'Anta no processo de fervura, mostrou um valor dentro do preconizado para garantir a funcionalidade, 13,2 mg/ 100mL de rutina na cerveja, se levarmos em consideração todos os flavónois, teremos um crescimento, dando uma taxa de solubilização 28,96%. O fator a se relacionar nessa amostra é justamente a quantidade, qualidade e preço da matéria-prima utilizada para a produção da cerveja.

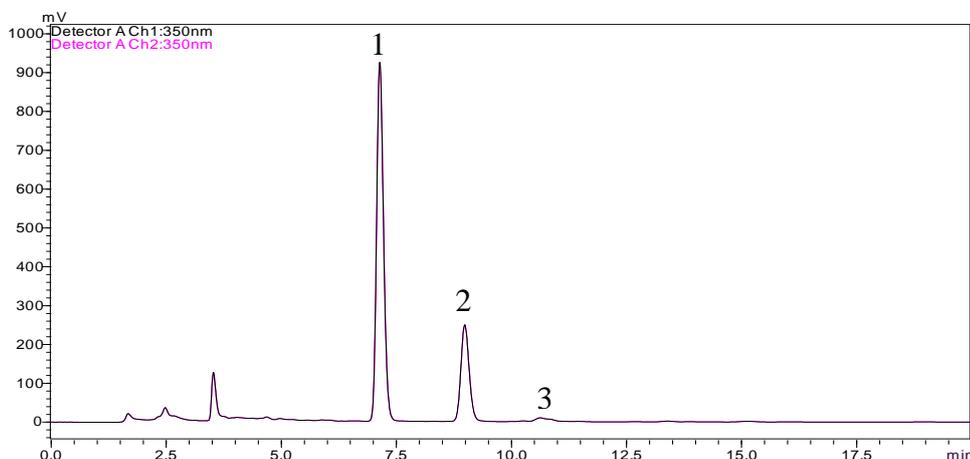
A amostra RUTBEER 003 (Figura 27), cerveja com adição de rutina purificada no processo de fervura, obteve os maiores valores de solubilização, onde a taxa de solubilização de 85,56%, garantindo uma maximização na eficiência do processo. Com esse resultado a cerveja garante a funcionalidade, fatores como relação custo-benéfico do produto.

Figura 25 – Cromatograma da RUTBEER 001.

*Picos são (1) Rutina, (2) Isoquercitrina e (3) Kaempferol, respectivamente.
Fonte: Autor, 2019.

Figura 26 – Cromatograma da RUTBEER 002.

*Picos são (1) Rutina e (2) Isoquercitrina, respectivamente.
Fonte: Autor, 2019.

Figura 27 – Cromatograma da RUTBEER 003.

*Picos são (1) Rutina, (2) Isoquercitrina e (3) Kaempferol, respectivamente.
Fonte: Autor, 2019.

4.4 Estabilidade de cerveja artesanal com rutina proveniente de fava d'anta

Com vista nos resultados de solubilidade da Rutina, dentre outros fatores, a amostra RUTBEER 003, com adição de Rutina purificada padrão DAB no processo de fervura da cerveja, sendo que a tabela 15 mostra os valores obtidos para os parâmetros físico-químicos durante os 90 dias de estocagem.

Tabela 15 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos durante o período de estocagem da RUTBEER 003.

Análises	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Acidez Total (mg/L)	52,48 ^a ± 1,85	55,27 ^a ± 0,88	54,84 ^b ± 1,63	54,98 ^b ± 0,39	58,35 ^b ± 0,77	63,12 ^b ± 0,55	64,74 ^b ± 0,86
Acidez Volátil (mg/L)	22,36 ^a ± 0,80	24,27 ^b ± 0,66	25,10 ^b ± 1,12	27,11 ^b ± 1,45	28,54 ^b ± 1,06	29,55 ^b ± 0,85	30,17 ^b ± 0,99
Cor (EBC)	18	18	18	19	19	19	20
Densidade	1,018	1,017	1,017	1,017	1,018	1,017	1,017
Extrato Real (%)	5,15 ^a ± 0,18	5,20 ^a ± 0,14	5,17 ^a ± 0,12	5,19 ^a ± 0,10	5,32 ^a ± 0,18	5,21 ^a ± 0,24	5,19 ^a ± 0,17
pH	4,12 ^a ± 0,02	4,14 ^a ± 0,01	4,23 ^a ± 0,01	4,18 ^a ± 0,01	4,26 ^a ± 0,01	4,28 ^a ± 0,01	4,29 ^a ± 0,01
Açúcares Totais (g/100g)	2,13 ^a ± 0,25	2,09 ^a ± 0,33	1,98 ^a ± 0,44	2,01 ^a ± 0,16	1,94 ^a ± 0,09	1,96 ^a ± 0,22	1,80 ^a ± 0,35
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	7,4 ^a ± 0,1	7,3 ^a ± 0,1	7,2 ^a ± 0,1	6,9 ^a ± 0,1	7,0 ^a ± 0,1	7,0 ^a ± 0,1	6,8 ^a ± 0,1
Teor Alcoólico (% v/v)	4,78 ^a ± 0,23	4,82 ^a ± 0,18	4,81 ^a ± 0,20	4,79 ^a ± 0,34	4,80 ^a ± 0,14	4,81 ^a ± 0,17	4,81 ^a ± 0,25

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, a nível de 95% de confiança.

Fonte: Autor, 2019.

Os valores dos parâmetros cor, densidade, extrato real, açúcares totais, sólidos solúveis totais e teor alcoólico não diferiram estatisticamente a um nível de 5% de significância.

Os ácidos orgânicos voláteis obtiveram um aumento durante o tempo amarelecimento, aumentando assim os ácidos totais. Isso é benéfico, pois os ácidos orgânicos são importantes não somente por contribuir para o sabor e o aroma da cerveja, mas também por influenciar seu pH, de forma que um decréscimo durante a fermentação afeta as propriedades de cerveja, como a estabilidade à turbidez não biológica, a estabilidade do sabor, a suscetibilidade e as alterações microbiológicas e a percepção do amargor, que aumenta com a elevação do pH. Sensorialmente, a função mais importante dos ácidos orgânicos na cerveja é aumentar a acidez do produto para um nível agradável ao paladar humano.

Wyler (2013) estudou o armazenamento de cerveja premium lager com diferentes agentes maturantes durante 90 dias, onde encontrou resultados de pH estáveis em todos os tratamentos, com valores variando de 4,57 a 4,86, e cor menor que 10 EBC durante os 3 meses de armazenamento, resultados com comportamento semelhantes ao encontrado neste estudo.

A tabela de 16 mostra os valores médios de Rutina, Isoquercetrina e Kaempferol encontrados durante a estocagem as RUTBEER 003. Os cromatogramas são apresentados no Apêndice E. Durante os 6 meses de armazenamento a Rutina se apresentou mais estável, onde a figura 28, mostra a degradação de 18,75% durante esse tempo.

A Isoquercetrina teve uma degradação de 48,12% durante os 180 dias de armazenamento. A figura 29 mostra essa degradação, se comparamos com o resultado encontrados na Tabela 14, a RUTBEER 003 mesmo com 6 meses de armazenamento apresentada maiores resultados deste flavonoide.

O Kaempferol teve uma degradação bastante acentuada durante a estocagem, sendo que o valor caiu 65%. A figura 30 mostra essa degradação. Em comparação com os outros flavonoides o Kaempferol necessita de uma menor quantidade para garantir a funcionalidade e sua ação antioxidante.

Tabela 16 – Valores médios dos flavonóides identificados por CLAE durante a estocagem da RUTBEER 003.

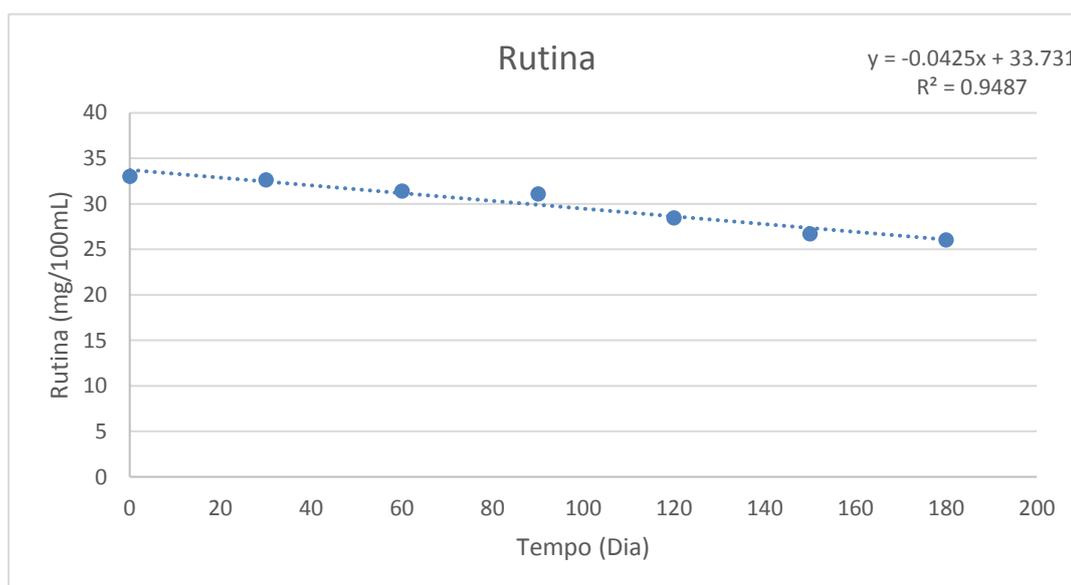
Análises	0 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	150 dias	180 dias
Rutina (mg/100mL)	33,01	32,62	31,41	31,09	28,45	26,7	26,03
Isoquercetrina (mg/100mL)	10,84	10,73	7,3	7,14	6,48	6,1	5,6
Kaempferol (mg/100mL)	9,89	9,83	8,65	7,97	7,15	4,39	3,45

Fonte: Autor, 2019.

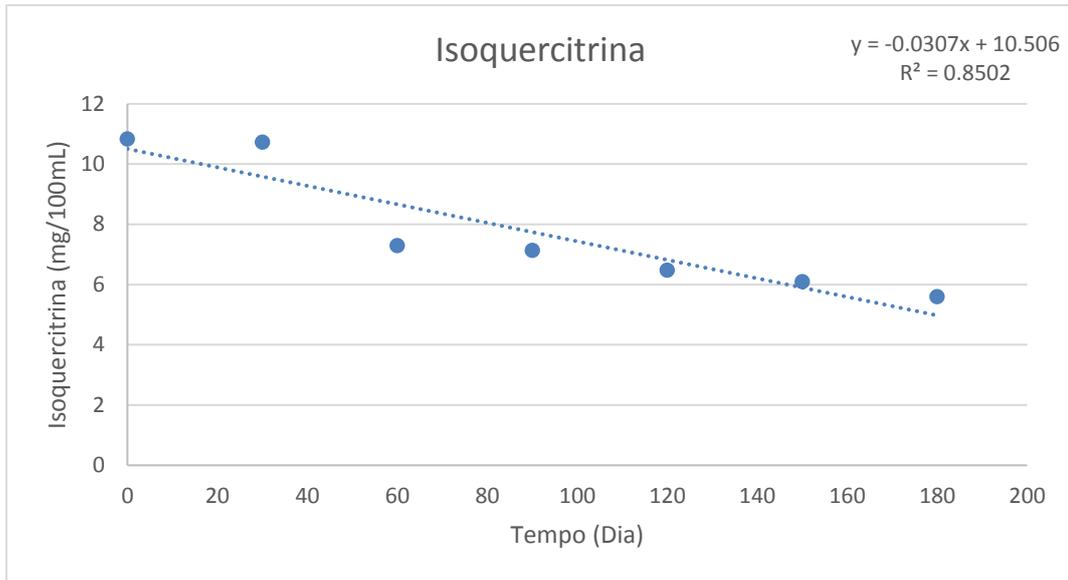
Callemien e Collin (2009) preconizam que a quantidade flavonoides é estável em cervejas que são armazenadas em ambientes com condições de adequadas de luz, temperatura, umidade relativa.

Nardini e Ghiselli (2004) estudaram a variação dos compostos fenolicos durante a estocagem de cervejas europeias, avaliaram que apenas que apenas o acido gálico e alguns flavonóides não tiveram diferença significativa de degradação durante o armazenamento. A qualidade sensorial da cerveja armezanada está diretamente ligada a quantidade de substâncias antioxidantes presentes no produto (CALLEMIEN e COLLIN, 2007).

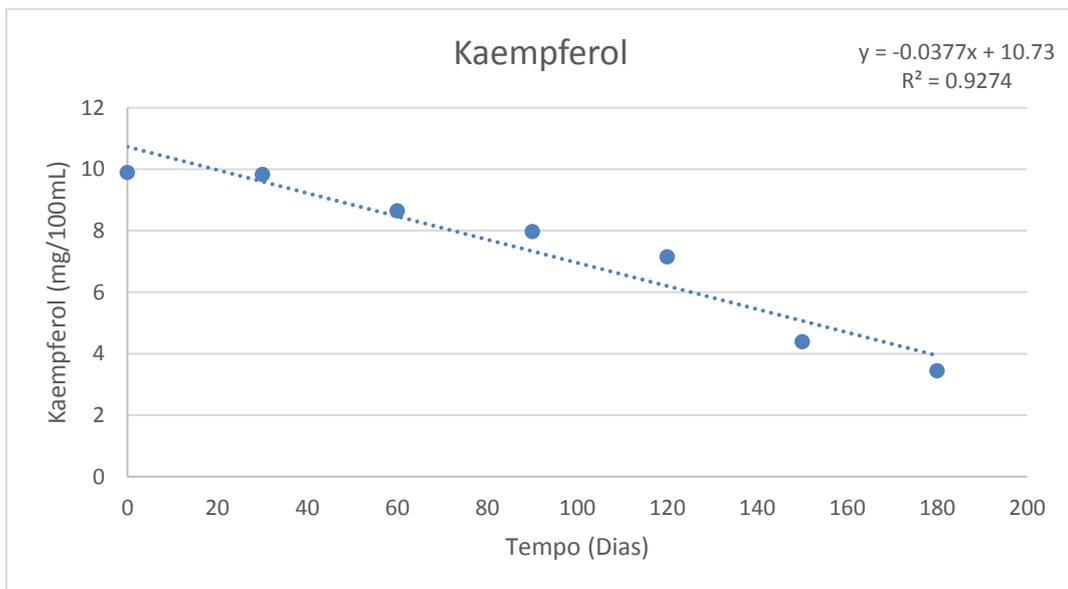
Figura 28 – Estabilidade da Rutina durante o tempo de estocagem.



Fonte: Autor, 2019.

Figura 29 – Estabilidade da Isoquercitrina durante o tempo de estocagem.

Fonte: Autor, 2019.

Figura 30 – Estabilidade do Kaempferol durante o tempo de estocagem.

Fonte: Autor, 2019.

A tabela 17 mostra os resultados para as análises microbiológicas durante o tempo os 90 dias de estocagem, os valores de bolores e leveduras, coliformes totais, coliformes termotolerantes e E. Coli obtiveram valores mínimos na RUTBEER 003. Este resultado se deve ao processo de pasteurização das cervejas, bem como através do controle higiênico-sanitário durante o processamento, de modo a evitar a contaminação do produto ao longo de seu desenvolvimento.

Tabela 17 – Valores médios dos resultados microbiológicos durante a estocagem da RUTBEER 003.

Análises	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Bolores e Levedura (UFC/mL)	≤10	≤10	≤10	≤10	≤10	≤10	≤10
Coliformes Totais (NMP/mL)	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
Coliformes Termotolerantes (NMP/mL)	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
E. coli (NMP/mL)	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1

Fonte: Autor, 2019.

Os atributos sensoriais avaliados durante a estocagem são apresentados na tabela 18, todos os atributos sensoriais variaram estatisticamente. Além do atributo cor, todos os atributos tiveram uma diminuição durante o tempo de estocagem, mas os valores ainda continuam na escala de aceitabilidade positiva, variando de “gostei moderadamente” a “gostei ligeiramente”.

Valores nessa casa sensorial são maiores que o encontrados por Do Rio (2017) em cervejas adicionadas de hortelã e gengibre.

Tabela 18 – Valores médios dos atributos sensoriais durante a estocagem da RUTBEER 003.

Hedônica	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Cor	7,40 ^a	7,22 ^{ab}	7,25 ^a	7,18 ^b	7,09 ^b	7,11 ^b	7,25 ^a
Aroma	7,12 ^a	7,14 ^a	7,02 ^a	6,78 ^b	6,86 ^b	6,74 ^b	6,80 ^b
Sabor	6,87 ^a	6,98 ^a	6,82 ^b	6,84 ^b	6,72 ^b	6,54 ^b	6,55 ^b
Corpo	7,23 ^a	7,12 ^a	7,09 ^{ab}	7,14 ^a	6,84 ^b	6,90 ^b	6,82 ^b
Aceitação Global	7,02 ^a	6,89 ^b	7,08 ^a	6,91 ^b	6,82 ^b	6,74 ^b	6,80 ^b

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si, a nível de 95% de confiança.

Fonte: Autor, 2019.

A tabela 19 mostra a variação da atitude de compra durante a estocagem da RUTBEER 003, os valores variaram estaticamente a partir dos 30 dias de estocagem, atenuando até os 90 dias. Durante a estocagem os valores ficaram superior a 3,00 que obtem uma na escala de “tenho duvida se compraria” a “provavelmente compraria”.

Tabela 19 – Valores médios da atitude de compra durante a estocagem da RUTBEER 003.

	0 dias	15 dias	30 dias	45 dias	60 dias	75 dias	90 dias
Atitude de Compra	3,46 ^a	3,24 ^{ab}	3,38 ^a	3,22 ^b	3,05 ^b	3,11 ^b	3,01 ^b

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre sí, a nível de 95% de confiança.
 Fonte: Autor, 2019.

A figura 31 apresenta a RUTBEER 003 após 90 dias de armazenamento com um rótulo desenvolvido no Parque de Desenvolvimento Tecnológico do Ceará.

Figura 31 – RUTBEER 003 após 90 dias de Armazenamento.

Fonte: Autor, 2019.

4.5 Compostos bioativos, biodisponibilidade e atividade antioxidante da Cerveja com Rutina proveniente da fava d'anta

Na tabela 20 estão os resultados dos efeitos da digestão gastrointestinal sobre a liberação do conteúdo total de compostos fenólicos, flavonóides, flavanois, assim como suas classes específicas como rutina, isoquercetrina e kaempferol.

Tabela 20 – Alterações com compostos bioativos durante o processo de simulação de digestão *in vitro* da cerveja com rutina proveniente da fava d'anta.

	<i>Fenólicos</i> (mg EAG.100mL ⁻¹)	<i>Flavonóides</i> (mg EA.100mL ⁻¹)	<i>Flavanois</i> (mg EA.100mL ⁻¹)	<i>Rutina</i> (mg.100mL ⁻¹)
Amostra	40,10 ^a ± 0,27	12,09 ^a ± 0,02	947,83 ^a ± 4,65	33,01 ^a ± 0,23
Oral	33,91 ^b ± 0,18	10,43 ^a ± 0,08	908,32 ^b ± 2,32	29,88 ^b ± 0,47
Gástrica	39,02 ^a ± 1,74	5,45 ^b ± 0,30	253,29 ^c ± 8,45	26,90 ^c ± 0,58
Duodenal	29,81 ^b ± 1,97	2,88 ^c ± 0,61	66,09 ^d ± 3,38	16,90 ^d ± 0,12
Colônica	18,06 ^c ± 3,51	ND	27,12 ^e ± 1,05	8,54 ^e ± 0,37

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si, a nível de 95% de confiança.
Fonte: Autor, 2019.

O alto conteúdo de flavanois se deve a junção dos compostos naturalmente presentes na cerveja, com os isomerizados da matriz de rutina, aumentando assim a quantidade e garantindo que após a simulação da digestão, ainda obtivemos valores significativos.

O aumento de polifenóis na fase gástrica é atribuído às rupturas provenientes do processo, devido a acidez do meio e do tempo de contato do fluido gástrico com o substrato. Essa ação a liberação dos metabólitos secundários, elevando sua bioacessibilidade no lúmen intestinal, ao contrario ocorre a redução desses compostos no intestino delgado, isso se dá pela degradação ou clivagem ocorrida no estômago, com a formação de novos metabólitos (SOUSA, 2018; MINEKUS et al. 2014).

A tabela 21 apresenta os valores médios de biodisponibilidade dos compostos

bioativos, onde os valores de fenólicos obtiveram uma maior resistência, quando comparados aos flavonóides e flavanois.

Tabela 21 – Valores médios de biodisponibilidade de compostos bioativos durante o processo de digestão *in vitro* presentes na cerveja com rutina proveniente da fava da d’anta.

	<i>Fenólicos</i>	<i>Flavonóides</i>	<i>Flavanois</i>	<i>Rutina</i>
Oral	84,56	86,27	95,83	90,51
Gástrica	97,3	45,08	26,72	81,49
Duodenal	74,33	23,82	6,97	51,19
Colônica	45,03	ND	2,86	25,87

Fonte: Autor, 2019.

A influência da simulação da digestão gastrointestinal da cerveja na capacidade scavenger do radical ABTS, e na redução do íon férrico (Fe^{3+}) em ferroso (Fe^{2+}) pelo ensaio FRAP são apresentados na tabela 22.

Tabela 222 – Alterações na atividade antioxidante durante a simulação da digestão *in vitro* da cerveja com rutina proveniente da fava d’anta.

<i>Fase</i>	<i>ABTS ($\mu\text{mol.Trolox.mL}^{-1}$)</i>	<i>FRAP ($\mu\text{mol.Trolox.mL}^{-1}$)</i>
Amostra	80,64 ^b ± 0,24	2,37 ^a ± 0,01
Oral	75,56 ^b ± 0,52	1,73 ^a ± 0,10
Gástrica	50,81 ^c ± 1,01	1,67 ^a ± 0,11
Duodenal	166,56 ^a ± 0,52	ND
Colônica	50,14 ^c ± 0,52	ND

*Letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre sí, a nível de 95% de confiança.

Fonte: Autor, 2019.

O estudo demonstrou que a cerveja obteve capacidade antioxidante em ambos os ensaios, e que houve uma degradação significativa apenas na simulação da digestão duodenal e colônica. Esse fato é atribuído a baixa concentração dos compostos bioativos nesta etapa.

5 CONCLUSÃO

O processo de obtenção de Rutina DAB, aumenta sua cristalinidade.

A incorporação de rutina na cerveja, não interfere nos parâmetros fermentativos, não apresentando diferença significativa.

Todas as amostras de cerveja desenvolvidas no presente estudo apresentaram valores sensoriais, físico-químicos e microbiológicos aceitáveis para a produção de cervejas especiais.

A amostra RUTBEER 003, cerveja com adição de rutina purificada no processo de fervura, obteve os maiores valores de solubilização, onde a taxa de solubilização de 85,56%, garantindo uma maximização na eficiência do processo. Com esse resultado a cerveja garante a funcionalidade, fatores como relação custo-benefício do produto.

A cerveja RUTBEER 003, apresentou valores microbiológicos e físico-químicos seguros durante os 90 dias de armazenagem. Os atributos sensoriais obtiveram valores de aceitabilidade positiva.

Os valores de Rutina, Isoquercetrina e Kaempferol na amostra RUTBEER 003 garantiram a característica de funcionalidade após 180 dias de armazenamento.

A simulação da digestão *in vitro* mostra que os compostos bioativos permanecem disponíveis para absorção, e eventual utilização pelos tecidos, particularmente os flavanois.

REFERÊNCIAS

- ABIQUIFI. 2018. **Exportações do interesse do setor farmoquímico**, 2018. Disponível em: <http://www.ABIQUIFI.org.br/mercado/ESTATISTICAS%20DE%20EXP.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2018.
- ACHILLI, G., CELLERINO, G. P., GAMACHE, P. H. Identification and determination of phenolic constituents in natural beverages and plant-extracts by means of a coulometric electrode array system. **Journal of Chromatography**, v. 632, p. 111-117, 1993.
- AHMAD, M. M., REHMAN, S., IQBAL, Z., ANJUM, F. M., SULTAN, J. I. Genetic variability to essential oil composition in four citrus fruit species. **Pakistan Journal of Botany**, v 38, n 2, p. 319-324, 2006.
- ASBC, AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS. **Methods of analysis of american society of brewing chemists**. 8ª Ed. Saint Paul: ASBC, 1996.
- ALMEIDA e SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, G. W. **Tecnologia de Bebidas**. São Paulo: Blucher, 2005.
- ALCÂNTARA, M. S. **Cadeia produtiva, manejo, conservação da Fava d'anta (Dimorphandra gardneriana Tulasne) da Floresta Nacional do Araripe-Apodi, Região Semiárida do Nordeste do Brasil**. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e meio ambiente da Universidade Federal da Paraíba. 2017.
- ANALYTICA, EBC. **European brewery convention**. Nurnberg: Fachverlag Hans Carl, 2008.
- ANNEMULLER, G., MANGER, H. J. **Processing of various adjuncts in beer production**. Alemanha: VLB Berlin, 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Washington: AOAC, 2006. v. 2.
- ARAÚJO, G. S. **Elaboração de uma cerveja ale utilizando melão de caroá [sicana odorífera (vell.) naudim] como adjunto do malte**. 2016. 133 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química). Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
- ARNOUS, A., MAKRIS, D. P., KEFALAS, P. Correlation of Pigment and Flavanol Content with Antioxidant Properties in Selected Aged Regional Wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, 15, 655-665, 2002.
- AQUILANE, B., LAURETI, T. POPONI, S., SECONDI, L. Beer choice and consumption determinants when craft beers are tasted: an exploratory study of consumer preferences. **Food Quality and Preference**, 41, 214-224, 2015.
- ASANTE, P. K. **Suitability of cassava starch as adjunct substitute for barley in the brewing of beer (stout beer)**. 2008. Master of Science (Department of Biochemistry) Kwame Nkrumah University of science and technology, Kumasi, 2008.

BAMFORTH, C. W. **Beer: New technologies**. USA: CRC Press, 2006.

BAMFORTH, C. W. **Beer – A quality perspective**. USA: Elsevier, 2009.

BAMFORTH, C. W. **Food, Fermentation and microorganisms**. USA: Science a Blackweel Publishing, 2005.

BATISTA, R. A. **Produção e Avaliação Sensorial de Cerveja com Pinhão (Araucaria angustifolia)**. 2014. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, 2014.

BERNSTEIN, L.; WILLOX, I. C. Água. In: BRODERICK, H. M. (Dir.). *El cervecero en la practica: un manual para la industria cervecera*. 2. ed. Lima: Graficas SUR, 1977. cap. 2, p.18-28.

BETTENHUASEN, H. M., BARR, L., BROECKLING, C. D., CHAPARRO, J. M., HOLBROOK, C., SEDIN, D., HEUBERGER, A. D. Influence of malt source on beer chemistry, flavor and flavor stability. **Food Research International**. V 113, pg 487-504, 2018.

BEZZI, M. A. Tribuna. **De prima pobre, a cerveja agora é bebida fina**. 2009. Disponível em: <http://www.tribunatp.com.br/modules/news/article.php?storyid=3096>. Acesso em: 01/12/2018.

BOKULICH, N. A., & BAMFORTH, C. W. (2013). The microbiology of malting and brewing. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 77(2), 157–172.

BORZANI, W. **Biotecnologia industrial**. vol. 4. São Paulo: E. Blücher, 2001.

BOOYSE, F. M., PAM, W., GRENETT, H. E. *et al.* Mechanism by which alcohol and wine polyphenols affect coronary heart disease risk. **Ann. Epidemiol.** v 17, p. S24-S31, 2007. **Beer Judge Certification Program (BJCP) (2015)**. BJCP style guidelines. Site. <<http://www.bjcp.org>>, acesso em Outubro de 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5 ed. Brasília: Anvisa, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 6.871, de 04 de junho de 2009**. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 5 jun. 2009. Disponível em: http://gpex.aduaneiras.com.br/gpex/gpex.dll/infobase/atos/decreto/decreto6871_09/dec%2006871_09_01.pdf . Acesso em: 04/12/2018.

BRADDEE, L. H. Adjuntos. In: BRODERICK, H. M. (Dir.). *El cervecero en la practica: um manual para la industria cervecera*. 2. ed. Lima: Graficas SUR, 1977. cap. 4, p. 53-82

BRECHO, J. R. M., MACHADO, H., GUERRA, M. O. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, v. 1 n.1, p 21-

25, 2009.

BRIGGS, D. E., BOULTON, C. A., BROOKES, P. A., STEVENS, R. **Brewing – Science and practice**. Cambridge: CRC Press, 2004.

CALLEMIEN, D., COLLIN, S. Involvement of flavonoids in Beer Color Instability during Storage. **Journal Agriculture and Food Chemistry**. v 55, p. 9066-9073, 2007.

CALLEMIEN, D., COLLIN, S. Structure, organoleptic properties, quantification methods and stability of phenolic compounds in beer: a review. **Food Reviews International**, Philadelphia, v. 26, n. 1, p. 1-84, 2009.

CARVALHO, G. B. M. *et al.* Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 3º parte: a maturação. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 27, p. 69-74, fev./mar. 2007.

CEREDA, M. P. **Cervejas**. In: AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W. Alimentos e bebidas produzidas por fermentação. São Paulo: Edgar Blucher, 1985. p. 3-78.

CHAVES, M. M. F.; USBERTI, R., Prediction of *Dimorphandra mollis* bend (“faveiro”) seed longevity. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 557-564, 2003.

COOPER, R. G. **Produtos que dão certo**. São Paulo: Saraiva, 2013.

COUCH, J. F.; NAGHSKI, J.; KREWSON, C. F., Buckwheat as source of rutin. **Science**, Washington, v. 103, p. 197-198, 1946.

CRAVEIRO, A. A. **Fava D’anta a bênção do Cariri**. Crato: Coisas do meu sertão, 2014.

CHUA, L. S. A. A review on plant-based rutin extraction methods and pharmacological activities. **Journal of Ethanopharmacology**. v 150, n 3, p. 805-817, 2013.

CURI, R.A.; VENTURIN FILHO, W.G.; NOJIMOTO, T. Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte: análises físico-química e sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**. 12, n. 2, p. 106-112, 2009

CUKALOVIC, L., DESPOTOVIC, S. *et al.* Ganoderma lucidum- Medical mushroom as a raw material for beer with enhanced functional properties. **Food Research International**, v 43, p. 2262-2269, 2010.

DAENEN, L., STERCKX, F., DELVAUX, F. R., VERACHTERT, H., & DERDELINCKX, G. Evaluation of the glycoside hydrolase activity of a *Brettanomyces* strain on glycosides from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) used in the production of special fruit beers. **FEMS Yeast Research**, 8(7), 1103–1114. 2008

DE OLIVEIRA, C. A., PERES, D. D. A., GRAZIOLA, F., CHACRA, N. A. B., DE ARAÚJO, G. L. B., FLÓRIDO, A. C., & FERNANDES, A. S., Cutaneous biocompatible rutin-loaded gelatin-based nanoparticles increase the SPF of the association of UVA and UVB filters. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, p. 1-9, 2016.

DEEDS, S. **Brewing Engineering**. 2 ed. 2013.

DA COSTA, E. M., BARBOSA FILHO, J. M., DO NASCIMENTO, T. G., & MACÊDO, R. O., Thermal characterization of the quercetin and rutin flavonoids. **Thermochimica Acta**, v. 392, p. 79-84, 2002.

DIAZ, L. E., MONTERO, A., GONZALEZ-GROSS, M., VALLEJO, A. I., ROMEO, J., MARCOS, A. Influence of alcohol consumption on immunological status: A review. **European Journal of Clinical Nutrition**, 56(3), S50–S53. 2002.

DONADINI, G., PORRETTA, S. Uncovering patterns of consumers interest for beer: a case study with craft beers. **Food Research International**. 91, 183-198, 2017.

DO RIO, R F. **Desenvolvimento de uma cerveja formulada com gengibre (*Zingiber officinalis*) e hortelã do Brasil (*Mentha arvensis*): avaliação de seus compostos bioativos e 74 comparação com dois estilos de cerveja existentes no mercado**. 2013. 70 f. Dissertação de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Programa de Pós-Graduação Stricto Senso, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, 2013.

DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 2010. cap. 2, p. 15-50.

DRAGONE, G., MUSSATTO, S. I., NOGUEIRA, A. D., ALMEIDA E SILVA, J. B. Produção de Cerveja: Microrganismos deteriorantes e métodos de Detecção. **Brazilian Journal Food Technology**, v 10, n. 4, p. 240-251, 2007.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2ed. Curitiba: Champagat, 2011.

DUCRET, J., RÉBÉNAQUE, P., DISERENS, S., KOSINSKA-CAGNAZZO, A., HERITIER, I., ANDLAUER, W. Amber ale beerenriched with goji berries – the effect on bioactive compound content and sensorial properties. **Food Chemistry**. 226. 109-188. 2017.

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

EUQUERES, J. S. **Estimativa dos pKa da Rutina empregando modelos semi-empíricos de cálculo mecânico-quântico**. 2009. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

ERTHAL A. D. **Microcervejaria**. SEBRAE, 2006.

FILIZOLA, B. G. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da fava d'anta**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2013.

FOGLIANO, V., COROLLARO, M. C., VIATGLIONE, P., NAPOLITANO, A., FERRACANE, R., TRAVAGLIA, F., ARLORIO, M. et al. In vitro bioaccessibility and gut biotransformation of polyphenols presente in the water-insoluble cocoa fraction. *Molecular*

Nutrition and Food Research, 5, 1-12, 2011.

GERHÄUSER, C. Beer constituents potencial câncer chemopreventive agentes. **European Journal of Cancer**. V. 41, pág 1941-1954, 2005.

GERHARDT, C., WIEST, J. M., GIROLOMETTO, G., SILVA, M. A. S., WESCHENFELDER, S. Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. **Brazilian Journal of Food Technology**. P. 11-17, 2012.

GRANATO, D., BRANCO, G. F., FARIA, J. A. F., & CRUZ, A. G. (2010). Characterization of Brazilian lager and brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 91, 563–571.

GRANATO, D., CALADO, V. M. A., & JARVIS, B. (2014). Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. **Food Research International**, 55, 137–149.

GONDIN, R. **Microcervejarias artesanais brigam por 1% do mercado**. Diário do Comércio. Minas Gerais, 01/nov/2011. Disponível em: <http://www.diariodocomercio.com.br/index.php?id=68&conteudoId=102198&edicaoId=1030>. Acesso em: 12/01/2019.

GOUPY, P. *et al.* Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 12, p. 1625-1634, 1999.

HAN, H., KIM, J., CHOI, E., AHN, H., KIM, W. J. Characteristics of beer produced from Korean six-row barley with the addition of adjuncts. **Journal of Institute Brewing**. v 122, p. 500-507, 2016.

HINDY, S. **A revolução da cerveja artesanal**. São Paulo: Tapioca, 2015.

HUBINGER, S. Z., SALGADO, H. R. N., MOREIRA, R. R. D. Controles físico, físico-químico, químico e microbiológico dos frutos de *Dimorphandra mollis* Benth., Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 690-696, 2009.

INTERNATIONAL COMMISSION on MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microorganisms in Foods**. 8 ed. 400p. 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do IAL: **Métodos químicos e físicos para análise de Alimentos**. 3. ed: São Paulo, 2005.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JARDIM, C. da C., DE SOUZA, D., MACHADO, I. C. K., PINTO, L. A. N.; DE SOUZA RAMOS, R.C.; GARAVAGLIA, J. Sensory Profile, Consumer Preference and Chemical Composition of Craft Beers from Brazil. **Beverages**. 4, 106. 2018.

KALNIN, J. L.; **Avaliação Estratégica para Implantação de Pequenas Cervejarias**. Curso

de Pós-Graduação em Engenharia de Produção e Sistemas, Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Florianópolis, 1999.

KLATSKY, A. L. Moderate drinking and reduced risk of heart disease. **Alc. Res. Health**, v 23, p. 15-23, 1999.

KUCK, L. S. **Cerveja: Sabor e Aroma**. 2008. Disponível em: http://files.wordpress.com/2009/08/cerveja_sabor_e_aroma.pdf . Acesso em: 04/12/2018.

KUNZE, W. **Tecnología para cerveceros y malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006.

LANDIM, L. P., COSTA, J. G. M. *Dimorphandra gardneriana* Tulasne (Fava d'anta) - Uma abordagem etnobotânica e riscos de extinção. **Revista da Biologia**, 2012.

LEITAO, C., MARCHIONI, E., BERGAENTZLÉ, M., ZHAO, M., DIDIERJEAN, L., MIESCH, L., ENNAHAR, S. Fate of polyphenols and antioxidant activity of barley throughout malting and brewing. **Journal of Cereal Science**, 55(3), 318–322. 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2012.01.002>.

LEITAO, C., MARCHIONI, E., BERGAENTZLÉ, M., ZHAO, M., DIDIERJEAN, L., TAIDI, B., ENNAHAR, S. Effects of processing steps on the phenolic content and antioxidante activity of beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 59(4), 1249–1255. 2011.

LINDBERG, M. L., AMSTERDAM, E. A. Alcohol, wine and cardiovascular health. **Clin. Cardiol**. v 31, p. 347-351, 2008.

LIMA, U. A. **Matérias-primas dos alimentos**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2010.

LIMA, B. N. B., CABRAL, T. B., NETO, R. P. C., TAVARES, M. I. B, PIERUCCI, A. P. T. Estudo do amido de farinhas comerciais comestíveis. **Polímeros**, v 22, n 5, p.486-490, 2012.

MACHADO, H., **Atividade dos flavonóides rutina e naringina sobre o tumor ascítico de Erlich “in vivo”**. 2006. 125f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.

MARCUSSO, E. F., MÜLLER, C. V. **ANUÁRIO DA CERVEJA NO BRASIL**. Ministério da Agricultura, 2018.

MARTINS, T. E. A. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação da formação de complexos de inclusão de rutina, avobenzona e metoxicinamato de octila na presença de ciclodextrinas**. Tese (Programa de pós graduação em Fármaco e Medicamentos) Universidade de São Paulo, 2018.

MATOS, R. P. **Estudos fitogeográficos e modelagem ecológica do gênero *Dimorphandra* Schott (Leguminosae, Caesalpinioideae)**. 2015. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

MENDES, A. D. R. *et al.* Produção de biomassa e de flavonóides totais por fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) sob diferentes níveis de fósforo em solução nutritiva. **Revista**

Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 7, n. 2, p. 7-11, 2005.

MINEKUS, M., ALMINGER, M., ALVITO, P., BALLANCE, S., BOHN, T., BOURLIEU, C., CARRIÈRE, F., BOUTROU, R., CORREDIG, M., DUPONT, D., DUFOUR, C., EGGER, L., GOLDING, M., KARAKAYA, S., KIRKHUS, B., LE FEUNTEUN, S., LESMES, U., MACIERZANKA, A., MACKIE, A., MARZE, S., MCCLEMENTS, D. J., MÉNARD, O., RECIO, I., SANTOS, C. N., SINGH R. P., VEGARUD, G. E., WICKHAM, M. S., WEITSCHIES, W., BRODKORB, A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food – na international consensus. **Food and Function**, 5, 1113-1124, 2014.

MOURA-NUNES, N., BRITO, T. C., FONCESCA, N. D. da, AGUIAR, P. F. de, MONTEIRO, M., PERRONE, D., TORRES, A. G. Phenolic compounds of Brazilian beers from diferente types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidante capacity. **Food Chemistry**. v 199, p. 105-113, 2016.

MONTES, A.; WEHNER, L.; PEREYRA, C.; DE LA OSSA, E. M., (2016). Precipitation of submicron particles of rutin using supercritical antisolvent process. **The Journal of Supercritical Fluids**, 118, 1-10.

MONTANO, H. G. *et al.* Phytoplasma in fava d'anta tree (*Dimorphandra gardneriana*) in Brazil. **Bulletin of Insectology**, v. 60, n. 2, p. 147, 2007.

MONTEIRO, A. P. **Produção de Cervejas Especiais adicionais de extratos solúveis de ervas nativas com propriedades antioxidantes**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia). Universidade Federal do Paraná, 2016.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. Edição Brasileira, Larousse. 2009.

MURAMATSU, Y.; SAKAGUCHI, E.; ORIKASA, T.; TAGAWA, A. Simultaneous estimation of the thermophysical properties of three kinds of fruit juices based on the measured result by a transient heat flow probe method. **Journal of Food Engineering**, v. 5, n. 8, p. 607-613, 2009.

NARDINI, M., GHISELLI, A. Determination of free and bound phenolic acids in beer. **Food Chemistry**, 84, 137–143, 2004.

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E.; HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.,; NORREM, K.; LEEUWEN, P. A. M., Flavonoids: a review of probable mecanismos action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, USA, v. 74, p. 418-25, 2001.

NUNES, A. R., RODRIGUES, A. L. M., QUEIROZ, D. B., VIEIRA, Í. G. P., NETO, J. F. C., CALIXTO-JUNIOR, J. T., TINTINO, S. R., MORAIS, S. M., COUTINHO, H. D. M. Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidante activity. **Journal of Photochemistry e Photobiology. B: Biology**, v 189, p. 119-123, 2018.

NUNES, J. D., NERY, P. S., FIGUEIREDO, L. S., COSTA, C. A., MARTINS, E. R. O extrativismo da Fava d'anta (*Dimorphandra mollis* benth.) na região do norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Mediciniais**. v 14, n 2, p. 355-363, 2008.

OLIVER, G. **A mesa do mestre do cervejeiro**. São Paulo: Senac, 2012.

ORTEGA, N.; MACIÀ, A.; ROMERO, M. P.; REGUANT, J.; MOTILVA, M. J. Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an *in vitro* digestion model. **Food Chemistry**, 124, 65-71, 2011.

PALMER, J. **How to Brew**. 1999. Disponível em:
<http://howtobrew.homebrewer.com.br/index.php/P%C3%A1gina_principal>. Acesso em: 04/12/2016.

PAI, T. V., SAWANT, S. Y., GHATAK, A. A., CHATURVEDI, P. A., GUPTA, A. M., & DESAI, N. S. (2015). Characterization of Indian beers: Chemical composition and antioxidant potential. **Journal of Food Science and Technology**, 52, 1414–1423.

PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K., Flavonoids as medicinal agents: recent advances. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 57, n. 5, p. 371-389, 1991.

PEDRIALI, C. A., **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes**. 2005. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PERRONE, D., FARAH, A., & DONANGELO, C. M. (2012). Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into elanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, 4265–4275.

PINTO, L. Í. F. **Acerola (Malpighia emarginata DC) e Abacaxi (Ananas comosus L. Merrill) como adjunto no processamento de cerveja: caracterização e aceitabilidade**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

PINTO, C. A. S. de O. **Influência da rutina na fotoestabilização da avobenzona (Filtro UVA) e do β-metoxicinamato de octila (filtro UVB)**. Tese (Programa de pós-graduação em Fármaco e medicamento). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PIAZZON, A., FORTE, M., & NARDINI, M. (2010). Characterization of phenolics content and antioxidant activity of different beer types. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58, 10677–10683.

POLAK, J., BARTOSZEK, M., & STANIMIROVA, I. (2013). A study of the antioxidant properties of beers using electron paramagnetic resonance. **Food Chemistry**, 141, 3042–3049.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. (Ed.). **Handbook of brewing**. 2006.

SHARMA, J., EMERY, E., OLIVER, J., PUGSLEY, T., ZHOU, J. Flowability of moist Pharmaceutical powders. **Powder Technology**, v.189, n.3, p.409, 2009.

QI, Y., JIANG, M., CUI, Y. L., ZHAO, L., & LIU, S., Novel reduction of Cr (VI) from wastewater using a naturally derived microcapsule loaded with rutin–Cr (III) complex. **Journal of hazardous materials**, v. 285, p. 336-345, 2015.

RIBEIRO, N. J. **Desenvolvimento de Cerveja Funcional sem glúten a partir de mandioca e trigo sarraceno**. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina – USFC, Florianópolis, 2016.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation-descolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26, 1231-1237, 1999.

REITENBACH, A. F. **Desenvolvimento de cerveja funcional com adição de probióticos**. Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, 2010.

SAKURAI, F. N., ESTRELA, K. C. A., TAMAYO, M. S., CASSEB, M. O., NAKASATO, M. Caracterização das propriedades funcionais das ervas aromáticas utilizadas em um hospital especializado em cardiopneumologia. **Demetra**, v 11, n 4, 1097-1113, 2016.

SANTOS, N. K. A. *et al.* Avaliação dos constituintes químicos e atividades antioxidante e toxicidade de *Dimorphandra gardneriana* (leguminosae). **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 1, n. 1, 2009.

SANTOS, I. J. *et al.* Expressão da alfa e beta amilase durante a germinação de cevada. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v 12. n.1. p.67-73. 2010.

SANDHAR, H.K., KUMAR, B., PRASHER, S., TIWARI, P., SALHAN, M., SHARMA, P. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, 1(1), pp. 25–4. 2011.

SEIDL, C. **O catecismo da cerveja**. São Paulo: Senac, 2003.

SICOBÉ. **Sistema de Controle de Produção de Bebidas**. Receita Federal. <http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/LegisAssunto/Sicobe.htm>. Acesso em 04/12/2018.

SINDICERV – **Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja**. Panorama de Mercado Cervejeiro Brasileiro. Disponível em:<http://www.sindicerv.com.br/mercado.php>. Acesso em: 12/12/2018.

SILVA, S.R., SCARIOT, A., DE MEDEIROS, M. B. Uso e práticas de manejo de faveira (*Dimorphandra gardneriana* Tul.) na região da Chapada do Araripe, Ceará: implicações ecológicas e sócio-econômicas. **Biodiversidade Brasileira**, v. 2, n. 2, p.65-73, 2012.

SLEIMAN, M; VENTURINI FILHO, W. G.; DUCATTI C.; NOJIMOTO T. Determinação do percentual de malte e adjuntos em cervejas comerciais brasileiras através de análise isotópica. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 163-172. 2010.

SOARES, N. Tempo de mudança. **Engarrafador Moderno**, São Caetano do Sul, n. 205, p 14.22, 2011. Disponível em:

http://www.engarrafadormoderno.com.br/edicoes/Edicao_205.pdf. Acesso em: 15 nov. 2016

SOUSA, M. de M. **Bioacessibilidade, capacidade antioxidante e efeitos toxigenéticos de polifenóis do Jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) e aplicação tecnológica do fruto.** Tese (Doutorado em Biotecnologia – RENORBIO), UFPI, 2018.

SOUSA JÚNIOR, J.R. *et al.* Traditional management affects the phenotypic diversity of fruits with economic and cultural importance in the Brazilian Savanna. **Agroforestry Systems**, p. 1-11, 2016.

SWAIN, T., HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. I- quantitative analysis of phenolics constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 19, 63-68, 1959.

TAPAS, A.R., SAKARKAR, D.M., KAKDE, R.B. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 7 (3), pp. 1089–1099. 2008.

TECHAKRIENGKRAIL, I. *et al.* Relationships of sensory bitterness in lager beers to iso-alfa-acid contents. **Journal of the Institut of Brewing**, v. 110, n.1, p. 51-56, 2004.

TELES, J. A. **Estudo da produção de mosto concentrado lupulado a partir de extrato de malte concentrado, xarope de alta maltose e Lúpulo.** Dissertação. Universidade de Campinas – UNICAMP. 2007.

TSCHOPE, E. C. **Microcervejarias e Cervejarias: A História, a Arte e a Tecnologia.** 1 ed. São Paulo: Aden, 2001.

TOMÁS-BARBERAN, F., ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 9, p. 853-876, 2001.

TÜSEKWA, A. B., MOSHA, T. C., LASWAI, H. S., TOWO, E. E. (2000) Traditional alcoholic beverages of Tanzania: production, quality and changes in quality attributes during storage. **International Journal Food Science Nutricion**. 51(2):135–14.

USDA (National Nutrient Database for Standard). Release 16, july 2003. Disponível em: http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl?acerola. Acessado em: 20/11/ 2018.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas: Tecnologia, Química e Microbiologia.** 1 ed. Zaragoza: Acribia S.A., 1997.

VIDGREN, V. **Maltose and Maltotriose transpor tinto Ale and Lager Brewer's yeast strains.** Tese, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade de Helsinki, 2010.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas: Matéria-prima, Processamento, BPF/APPCC, Legislação e Mercado.** São Paulo: E. Blucher, 2005, 550 p.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas: Bebidas alcoólicas.** v.1. São Paulo: Blucher, 2010.

YAO, L. H., JIANG, Y. M., TOMAS-BARBERAN, F. A. DATTA, N., SINGANUSONG, R., CHEN, S. S. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant Foods Hum Nutr.** 59, 113-122.,2004.

WRIGHT, C. A. *et al.* Beer Consumer's perceptions of the Health Aspects of Alcoholic Beverages. **Journal of Food Science**, 73, 1953-1963. 2008.

ZHAO, H., CHEN, W., LU, J., & ZHAO, M. (2010). Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers. **Food Chemistry**, 119, 150–1158.

ZHAO, H., LI, H., SUN, G., YANG, B., & ZHAO, M. (2013). Assessment of endogenous antioxidative compounds and antioxidant activities of lager beers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93, 910–917.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 64, 555-559, 1999.

WILLAERT, R. **The beer brewing process: wort production and beer fermentation.** Handbook of food products manufacturing. Brussel: John Wiley e Sons, 2007.

WYLER, P. **Influência da madeira de carvalho na qualidade da cerveja.** Dissertação (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”) – Universidade de São Paulo, 2013.

APENDICE A – CERTIFICADO DE ANÁLISE RUTINA DAB

Análise n°.00 de 15/06/2016

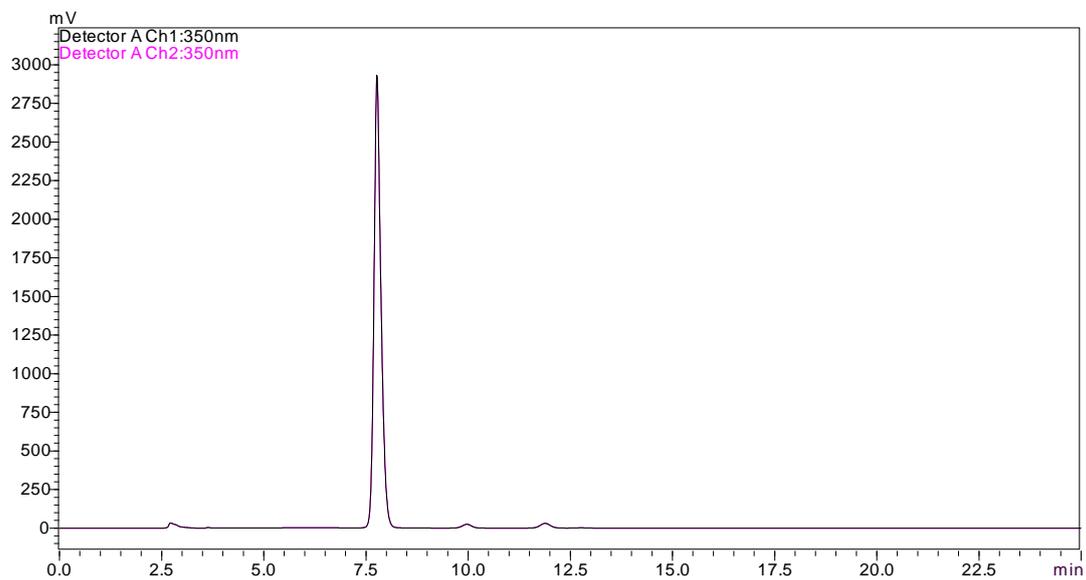
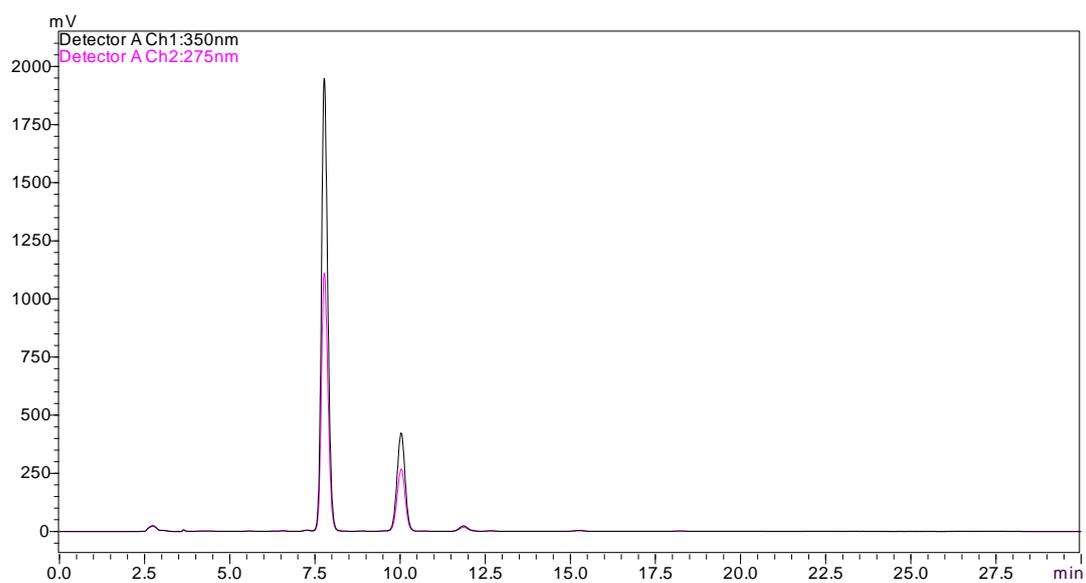
Data de fabricação: 10 /06/2016 Validade:10/06/2019

Lote n°. 010/2016

Testes	Especificações	Resultados
Cor	Amarela	De acordo
Odor	Inodoro	De acordo
Aparência	Pó fino cristalino	De acordo
Identificação (A, B, C, D)	Conforme prescrito	De acordo
Perda por dessecação (%max)	5 a 8.5%	6%
Resíduo de ignição (%max)	0.5%	0.1%
Clorofila (%max)	0.004%	0.001%
Metais pesados (%max)	0.001%	De acordo
Pigmentos vermelhos (%max)	0.004%	De acordo
Isoquercitrina HPLC (%max)	2%	0.8%
Quercetina HPLC (%max)	2%	0.3%
Kaempferol HPLC (%max)	2%	0.1%
Doseamento (%TBAH)	98.5 – 102%	99,7%
Contagem total de bactérias (max)	1000/g	De acordo
Contagem total de mofo e fungo (max)	10/g	De acordo
Salmonela	Negativo para 10g	De acordo
E. coli	Negativo para 10g	De acordo
S. aureus	Negativo para 10g	De acordo

Obs.: especificações de acordo com o German Pharmacopea 10th Ed. (DAB-10).

 CONTROLE DE QUALIDADE

APÊNDICE B – CROMATOGRAMA DA RUTINA PADRÃO DAB**RUTINA DAB****RUTINA NFXI**

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar como voluntário, sem qualquer tipo de pagamento, da pesquisa intitulada “**DESENVOLVIMENTO DE CERVEJA COM FLAVONÓIDES**”. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos. Se você tiver algum problema de saúde relacionado à ingestão de **CEVADA, ÁLCOOL** tais como: **alergia, intolerância ou qualquer outro problema de saúde NÃO poderá participar dos testes.**

O propósito desta pesquisa é avaliar a aceitabilidade de vários atributos sensoriais de diferentes formulações de CERVEJA, da atitude de compra dos produtos e a preferência desses produtos. Os dados serão coletados por meio de uma ficha de avaliação sensorial através do teste de escala hedônica de 9 pontos, atitude de compra de 5 pontos e comparação da mais preferida. Os participantes receberão uma amostra, irão provar e avaliar globalmente o produto e atribuir notas de 1 a 9 para as amostras servidas, sendo 1 correspondente a desgostei muitíssimo e 9 gostei muitíssimo. No teste de atitude de compra deverão informar o grau em que comprariam o produto. No teste de preferência deverão alocar a mais preferida em ordem crescente.

Aqueles que fornecerem dados espontaneamente pós-esclarecimento terão suas identidades preservadas mesmo em publicações em documentos especializados nos meios de comunicação científico ou leigo.

O abaixo-assinado, _____, _____ anos, RG nº _____ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário da pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo, como também sobre a pesquisa e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. Sei que poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

Sou sabedor que terei todas as dúvidas respondidas pelo pesquisador responsável Luan Ícaro no telefone (85) 99674-5267 ou e-mail: luanicaroxd@hotmail.com

Fortaleza, ___ de _____ de ____.

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador

ATENÇÃO: Para informar qualquer questionamento durante a sua participação no estudo, dirija-se ao: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará - Rua Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo - Telefone: 3366-8344

APÊNDICE D – FICHA SENSORIAL

Análise Sensorial de Cerveja com flavonóides - Recrutamento de Consumidores -

P _____

Nome: _____ Escolaridade: _____

Sexo ()M ()F Idade: () <18 () 18-25 () 25-35 () 35-45 () Acima de 45

Instruções para o teste sensorial:

Você está recebendo 4 amostras de Cervejas codificadas. Coloque as notas para cada característica de acordo com a escala abaixo.

9	Gostei MUITÍSSIMO	AMOSTRA	COR	AROMA	SABOR	CORPO	ACEITAÇÃO GLOBAL
8	Gostei Muito						
7	Gostei Moderadamente						
6	Gostei Ligeiramente						
5	Nem gostei, nem desgostei						
4	Desgostei Ligeiramente						
3	Desgostei Moderadamente						
2	Desgostei Muito						
1	Desgostei MUITÍSSIMO						

Instruções para o teste de intenção de compra:

Você está recebendo 4 amostras de cervejas codificadas. Coloque uma nota de intenção de compra para cada amostra experimentada.

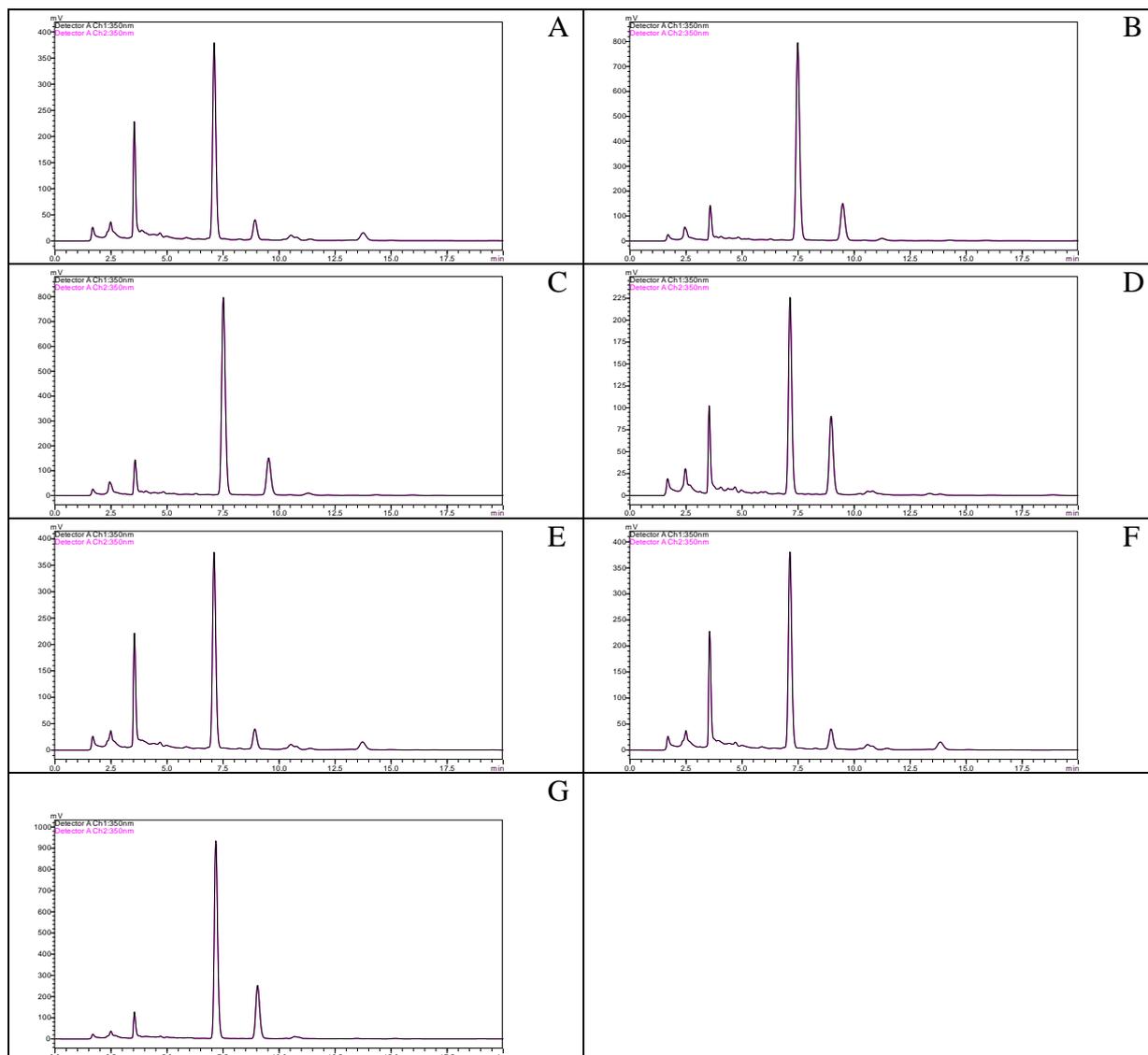
5	Certamente compraria	AMOSTRA	INTENÇÃO DE COMPRA
4	Provavelmente compraria		
3	Tenho dúvidas se compraria		
2	Provavelmente não compraria		
1	Certamente não compraria		

Instruções para o teste de ordenação-preferência:

Você está recebendo 3 amostras de Cervejas codificadas. Coloque o número da amostra informando o seu grau de preferência pelo produto.

- preferida

+ preferida

APÊNDICE E – CROMATÓGRAMA DA CERVEJA - RUTBEER 003

Legenda: A= RUTBEER 003 tempo 0; B= RUTBEER 003 tempo 30; C= RUTBEER 003 tempo 60; D= RUTBEER 003 tempo 90; E= RUTBEER 003 tempo 120; F= RUTBEER 003 tempo 150; G= RUTBEER 003 tempo 180.

Fonte: Autor, 2019.