

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Estudo do Perfil Químico de Cervejas Brasileiras: Uma
Avaliação entre as Bebidas Artesanais e Industriais**

Study of the Chemical Profile of Brazilian Beers: An Assessment between Artisanal
and Industrial Drinks

Dorval Moreira Coelho Neto

Tese de Doutorado em Química

Vitória

2021

Dorval Moreira Coelho Neto

Estudo do Perfil Químico de Cervejas Brasileiras: Uma Avaliação entre as Bebidas Artesanais e Industriais

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Química

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Química de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Valdemar Lacerda Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto
Filgueiras

VITÓRIA
2021

Moreira Coelho Neto, Dorval, 1989-
M835e Estudo do Perfil Químico de Cervejas Brasileiras: Uma Avaliação entre
as Bebidas Artesanais e Industriais.
138 f.: il.

Orientador: Valdemar Lacerda Jr.
Co-Orientador: Paulo Roberto Filgueiras.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Espírito
Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Química. 2. Cerveja. 3. Espectrometria de massa. 4. Espectroscopia
de ressonância magnética nuclear. 5. Espectroscopia de infravermelho. 6.
Quimiometria. I. Lacerda Jr., Valdemar. II. Roberto Filgueiras, Paulo. III.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

Estudo do Perfil Químico de Cervejas Brasileiras: Uma Avaliação entre as Bebidas Artesanais e Industriais

Dorval Moreira Coelho Neto

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 01/09/2021 por:

Prof. Dr. Valdemar Lacerda Júnior¹
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador(a)

Prof. Dr. Paulo Roberto Filgueiras¹
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador(a)

Prof. Dr. André Romero da Silva¹
Instituto Federal do Espírito Santo



Documento assinado digitalmente
Eloilson Domingos
Data: 03/09/2021 14:10:18-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Eloilson Domingos¹
Instituto Federal do Paraná

Prof. Dr. Álvaro Cunha Neto¹
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Warley de Souza Borges¹
Universidade Federal do Espírito Santo

¹ O documento será assinado eletronicamente em conformidade com as normas prescritas na Portaria Normativa PRPPG/ UFES nº 08/2021.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
VALDEMAR LACERDA JUNIOR - SIAPE 1524293
Departamento de Química - DQ/CCE
Em 01/09/2021 às 20:41

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/261039?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
PAULO ROBERTO FILGUEIRAS - SIAPE 2230605
Departamento de Química - DQ/CCE
Em 01/09/2021 às 21:46

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/261070?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
ALVARO CUNHA NETO - SIAPE 1703837
Departamento de Química - DQ/CCE
Em 02/09/2021 às 08:56

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/261151?tipoArquivo=O>



Emitido em 01/09/2021

FOLHA DE APROVAÇÃO-TCC N° Anexo C - Defesa - Dorval - Doutorado/2021 - REI-PRPPG (11.02.37.15)
(N° do Documento: 5)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/09/2021 01:33)

ANDRE ROMERO DA SILVA

PROFESSOR DO ENSINO BASICO TECNICO E TECNOLOGICO

REI-PRPPG (11.02.37.15)

Matrícula: 1653769

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ifes.edu.br/documentos/> informando seu número: 5, ano: 2021, tipo: FOLHA DE APROVAÇÃO-TCC, data de emissão: 03/09/2021 e o código de verificação: **da32aea7bd**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
WARLEY DE SOUZA BORGES - SIAPE 1817281
Departamento de Química - DQ/CCE
Em 03/09/2021 às 07:42

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/262040?tipoArquivo=O>

Dedico este trabalho a minha mãe, Rozeli Liberato Souza e a minha esposa Laysa Lanes Pereira Ferreira Moreira, que sempre com seu grande amor me incentivaram e me deram todo suporte.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela presença em minha vida, por toda a proteção, sabedoria e bênçãos concedidas, possibilitando a realização e conclusão dessa importante etapa.

À Laysa Lanes Pereira Ferreira Moreira, minha amada esposa, companheira e amiga pelo amor, carinho, motivação e apoio, os quais foram de extrema importância durante a realização deste trabalho.

À minha amada mãe, Rozeli Liberato Souza, que enfrentou muitas adversidades, mas que nunca deixou de investir em minha educação. Sem sua firme atuação, amor, carinho, incentivo e apoio tenho certeza que nenhuma conquista em minha vida seria possível.

À minha família e amigos pelas experiências e alegrias proporcionadas, as quais de alguma forma colaboraram pelos caminhos traçados.

Ao Professor e orientador Dr. Valdemar Lacerda Júnior pela orientação, presteza, agilidade e auxílio, os quais foram cruciais no planejamento, andamento e construção deste trabalho.

Ao Professor e co-orientador Dr. Paulo Roberto Filgueiras pela orientação, disponibilidade, atenção e auxílio na construção deste trabalho.

Ao Laboratório de Caracterização e Processamento Primário de Petróleos/NCPQ-LabPetro por toda estrutura fornecida

Ao Laboratório de Espectrometria de Massas/NCPQ-LabPetro e sua equipe, pelo suporte nas análises de massas.

Ao Laboratório de Instrumentação/NCPQ-LabPetro e sua equipe, pelo suporte e disponibilidade dos equipamentos para análise de infravermelho e ultravioleta.

Ao Laboratório de RMN de Alto e Baixo Campo/NCPQ-LabPetro e sua equipe, pelo suporte nas análises de RMN ^1H .

Ao Laboratório de Quimiometria/NCPQ-LabPetro e sua equipe, pelo suporte nas análises quimiométricas.

À UFES e o NCQP-LABPETRO por toda estrutura fornecida na execução desse estudo.

À FAPES, CAPES e CNPq pelo incentivo aos projetos da universidade, os quais auxiliaram no desenvolvimento da presente pesquisa

“Ouça, ó Israel. Hoje vocês vão lutar contra os seus inimigos. Não desanimem nem tenham medo; não fiquem apavorados nem aterrorizados por causa deles, pois o Senhor, o seu Deus, os acompanhará e lutará por vocês contra os seus inimigos, para dar a vitória a vocês”

Deuteronômio 20:3-4

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Registros históricos da presença da cerveja nas sociedades antigas. Monumento Blau (A) e a tabuleta contendo a Epopeia de Gilgamesh (B)..	27
Figura 2. Linha do tempo da cerveja: da cerveja rudimentar a cerveja moderna.	30
Figura 3. (A) Dados do setor cervejeiro brasileiro e mundial em 2019 com estimativas para 2023. (B) Produção <i>versus</i> faturamento, em 2019, dos três maiores países produtores de cerveja. (C) Produção, em 2019, das cinco maiores cervejarias do mundo com destaque para a única cervejaria brasileira apresentada no <i>ranking</i> mundial. Em ambos a produção é expressa em bilhões de litros de cerveja e o faturamento em bilhões de dólares (US\$).	33
Figura 4. Número de cervejarias registradas, por ano, no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.	34
Figura 5. Número de cervejarias registradas, por unidade da federação, em 2020, no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.	35
Figura 6. (A) Característica visual do malte quando submetidos a diferentes temperaturas de torra e (B) sua influência na coloração final da cerveja.	41
Figura 7. Cultivo comercial de <i>Humulus lupulus</i> (A). Sua flor, o Lúpulo (B) é ingrediente básico de todas as cervejas, normalmente comercializado na forma de <i>pellets</i> (C).	44
Figura 8. Corte transversal evidencia a presença das glândulas, em amarelo, com lupulina.	44
Figura 9. Estrutura genérica de um α -ácido (Humulona), e de dois β -ácidos que podem ser encontrados no lúpulo, a β -ionona e a β -damascenona.	45
Figura 10. Etapas de produção da cerveja.	48
Figura 11. Malte de cevada após o processo de moagem.	49
Figura 12. Imagem representativa da etapa de mostura na produção artesanal.	50
Figura 13. Estrutura química da Amilose e Amilopectina.	51
Figura 14. Hidrólise da amilose durante a mostura, resultando em açúcar fermentável e solúvel em água (glicose).	52
Figura 15. Estrutura dos principais α -ácidos presentes no lúpulo (A) e dos principais iso- α -ácidos formados durante a fervura (B). As estruturas dos substituintes R ₁ , R ₂ e R ₃ são apresentados na Tabela 3.	53

Figura 16. Mecanismo da reação de Maillard resultando na formação de melanoidinas, Furaneol e Maltol. Glc = Glicina e R = H, proteína, aminoácido ou Glicina.	55
Figura 17. Mecanismo de conversão da glicose em etanol e dióxido de carbono pela ação das leveduras.	56
Figura 18. Mecanismo de formação e conversão do diacetil durante a maturação...	60
Figura 19. Estruturas químicas de alguns compostos bioativos encontrados nas cervejas, conforme concentrações apresentadas na Tabela 8.	63
Figura 20. Modos de vibração molecular, sendo que os sinais X e • indicam movimentos para dentro e para fora do plano do desenho, respectivamente (UNESP, 2021).	68
Figura 21. Regiões aproximadas em que vários tipos comuns de ligação absorvem (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).	69
Figura 22. Núcleo de hidrogênio, que pode apresentar <i>spin</i> no sentido horário (+12) ou anti-horário (-12) e os momentos nucleares (μ), nos dois casos, apontam em direções opostas. Adaptado.	70
Figura 23. Processo de ressonância magnética nuclear: interação do núcleo mediante aplicação de um campo magnético (B_0).	71
Figura 24. Precessão de um núcleo girando, resultado da presença de um campo magnético aplicado	71
Figura 25. Componentes de um espectrômetro de massa.	73
Figura 26. Diagrama de um espectrômetro de massas com ionização por <i>electrospray</i> (IES).	74
Figura 27. Equipamentos utilizados na produção das amostras de cerveja. A esquerda equipamento <i>BeerMax</i> e a direita freezer horizontal acoplado com controlador digital de temperatura.	88
Figura 28. Rampa de temperatura aplicada durante a mostura.	89
Figura 29. Etapas da produção da cerveja. (A) início da mostura no equipamento <i>BeerMax</i> , (B) imagem ilustrando o fermentador/maturador e (C) fermentador/maturador armazenado sob temperatura controlada.	89
Figura 30. Espectros IVM (4000 a 650cm^{-1}) das amostras de cervejas analisadas. Destaque para as bandas em $1050\text{-}1040\text{ cm}^{-1}$ (Amarelo) e $875\text{-}865\text{ cm}^{-1}$ (Verde).	101
Figura 31. Espectros IVP, 10000 a 4000 cm^{-1} , sobrepostos das trinta amostras de cervejas analisadas.	102
Figura 32. Espectros de RMN ^1H com destaque aos compostos característicos presentes nas amostras de cervejas estudadas. (A) Cerveja com álcool – Amostra A1. (B) Cerveja sem álcool – Amostra L5.	104

Figura 33. Espectros de impressão digital ESI(+)FT-ICR MSrepresentativos das amostras de cervejas industriais (A) e cervejas artesanais(B). Sinais identificados na Tabela 13.....	108
Figura 34. Espectros de impressão digital ESI(-)FT-ICR MS representativos das amostras de cervejas industriais (A) e cervejas artesanais (B). Sinais identificados na Tabela 14.....	113
Figura 35. Gráfico de previstos versus medidos de cada regressão apresentada na Tabela 15 para a propriedade (A) Cor, (B) Acidez Total, (C) pH, (D) Densidade, (E) Teor Alcoólico dado pelo Fabricante, (F) Teor Alcoólico Determinado Experimentalmente e (G) Amargor.	117
Figura 36. Gráfico de <i>loadings</i> para cada VL usada na regressão PLS da propriedade (A) Cor, (B) Acidez Total, (C) pH, (D) Teor Alcoólico dado pelo Fabricante, (E) Teor Alcoólico Determinado e (F) Amargor.....	118
Figura 37. Gráfico de <i>scores</i> e <i>loadings</i> das duas primeiras componentes principais para MIR. Sendo: Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA)	120
Figura 38. Gráfico de <i>scores</i> e <i>loadings</i> das duas primeiras componentes principais para ESI(+)FT-ICR MS. Sendo: Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA)	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atuação dos principais íons que interferem nas propriedades organolépticas das cervejas.	39
Tabela 2. Propriedades organolépticas e físico-químicas de estilos mais comuns de cervejas.....	46
Tabela 3. Principais iso- α -ácidos encontrados na cerveja.....	53
Tabela 4. Contribuição dos ingredientes na coloração da cerveja.....	54
Tabela 5. Compostos químicos encontrados na cerveja e suas contribuições no aroma e sabor da bebida.....	57
Tabela 6. Compostos químicos encontrados na cerveja e <i>Off Flavour</i> causado na bebida.	58
Tabela 7. Concentração aproximada de alguns compostos encontrados na cerveja.	62
Tabela 8. Atividade terapêutica de alguns compostos presentes na cerveja.....	65
Tabela 9. Regiões espectrais do infravermelho.....	67
Tabela 10. Informações básicas das amostras estudadas. Informações obtidas nos rótulos dos produtos. Classificação com base na composição: Puro Malte Industrial (PMI) e com Adjunto Industrial (ADI).	81
Tabela 11. Perfil parametrizado, com os valores desejados, para a produção das cervejas artesanais puro malte e com adjuntos em lotes de 25 litros cada. Classificação com base na composição: Puro Malte Artesanal (PMA) e com Adjunto Artesanal (ADA).	85
Tabela 12. Caracterização físico-química das amostras cervejas comerciais e artesanais. Desvio-padrão informado entre parêntesis. Dado não informado (N/I)...	96
Tabela 13. Resumo dos principais íons detectados no ESI(+)-FT-ICR MS. Cervejas Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA). *Inclui PPM SC e P15M SC. †Exceto PPM SC e P15M SC.	109
Tabela 14. Resumo dos principais íons detectados no ESI(-)-FT-ICR MS. Cervejas Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA). *Inclui PPM SC e P15M SC. †Exceto PPM SC e P15M SC.....	114

Tabela 15. Modelos aplicados às técnicas analíticas de infravermelho médio (IVM) e próximo (IVP), RMN de ^1H , ESI(+) e ESI(-) segundo os parâmetros de desempenho.	115
Tabela 16. Valores dos parâmetros de desempenho dos modelos apresentados na Tabela 15.....	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C – Antes de Cristo

ADA – Cerveja Adjunto Artesanal

ADI – Cerveja Adjunto Industrial

airPLS - Sigla do inglês *Adaptive Iteratively Reweighed Penalized Least Squares*

CG-DCE - Cromatografia gasosa acoplada à detecção de captura de elétrons

CG-EM - Cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas

DMS - Dimetilsulfureto

EBC – Sigla do inglês *European Brewing Convention*

EI - Sigla do inglês *Electron Ionization*

EM – Espectrometria de massas

ESI, Sigla do inglês *Electrospray Ionization*

Glc – Glicina

IBU - Sigla do inglês *International Bitterness Unitis*

Icoshift – Sigla do inglês *Interval Correlation Shifting*

ESI(-)FT-ICR MS - Espectrometria de massas com ionização por *electrospray* modo negativo

ESI(+)FT-ICR MS - Espectrometria de massas com ionização por *electrospray* modo positivo

ESI(±)FT-ICR MS - Espectrometria de massas com ionização por *electrospray* modos positivo e negativo

IV – Infravermelho

IVM – Infravermelho médio

IVP – Infravermelho próximo

LD – Limite de determinação

LQ – Limite de quantificação

MALDI - Sigla do inglês *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MEFS - Microextração em fase sólida

MOBV – Manual operacional de bebidas e vinagres

MSC - Sigla do inglês *Multiplicative Scatter Correlation*

PC – Sigla do inglês *Principal Components*

PCA – Sigla do inglês *Principal Component Analysis*

pH – Potencial Hidrogeniônico

PIB – Produto Interno Bruto

PLS - Sigla do inglês *Partial Least Squares*

PLS-DA – Sigla do inglês *Partial Least-Squares Discriminant Analysis*

PMA – Cerveja Puro Malte Artesanal

PMI – Cerveja Puro Malte Industrial

PS-EM - Espectrometria de massas com a ionização por *paper spray*

RMN de ^1H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMSEC - Sigla do inglês *Root Mean Square Error Of Calibration*

RMSEP - Sigla do inglês *Root Mean Square Error Of Prediction*

SIMCA - Sigla do inglês *Soft Independent Modeling by Class Analogy*

SNV - Sigla do inglês *Standard Normal Variate*

SVR - Sigla do inglês *Support Vector Regression*

UV – Ultravioleta

Vis – Visível

VL – Variáveis latentes

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

%v/v – Porcentagem volume por volume

$Ab_{S_{275nm}}$ – Absorção da amostra em 275 nm

$Ab_{S_{430nm}}$ – Absorção da amostra em 430 nm

$[M+Cl]^-$ - Molécula anionizadas formando aduto de cloro

$[M+H]^-$ - Molécula desprotonada

$[M+H]^+$ - Molécula protonada

$[M+K]^+$ - Molécula cationizada formando aduto de potássio

$[M+Na]^+$ - Molécula cationizada formando aduto de sódio

°C – Graus celsius

μ - Momento Magnético

B_0 – Campo magnético

C – Custo

Ca^{2+} - Cátion bivalente do cálcio

Cl^- - Ânion monovalente do cloro

cm^{-1} - Centímetro recíproco

CO_2 – Gás carbônico

EBC – Graduação de cor da cerveja

f - Fator de diluição da amostra

$g \cdot L^{-1}$ – Grama por litro

$g \cdot mL^{-1}$ – Grama por mili litro

h - Constante de Planck

HCO_3^{1-} - Ânion bicarbonato

I - *spin* nuclear

IBU – Graduação do amargor da cerveja

J – Constante de acoplamento

L – Litro

m/z – Razão massa carga

M^{++} - Íon molecular positivo

M^{-} - Íon molecular negativo

$meq \cdot L^{-1}$ – Mili equivalente mol por litro

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ – Miligrama por litro

Mg^{2+} - Cátion bivalente do magnésio

min – Minuto

mL – Mili litro

$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ – Mol por litro

N – Normalidade

n - Volume em mL de solução titulante gasto

Nº - Número

Na^{1+} Cátion monovalente do sódio

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

nm – Nanômetro

NO_2^- - Ânion nitrito

NO_3^- - Ânion nitrato

ppm – Parte por milhão, unidade de deslocamento químico

R^2 - Coeficiente de determinação

R^2_c - Coeficiente de determinação de calibração

R^2_p - Coeficiente de determinação de predição

rpm – Rotações por minuto

SO_4^{2-} Ânion sulfato

US\$ - Dólares americanos

V – Volume da amostra em mL

α – Alfa

β – Beta

γ – Gama

δH – Deslocamento químico

ε – Margem

ω – Momento angular

A_t – Acidez total

E – Energia do fóton

c - Velocidade da luz no vácuo

ν - Frequência de transição

λ - Comprimento de onda do fóton

μ – Micro

μm – Micrômetro

RESUMO

A cerveja, comumente, é produzida com quatro ingredientes: água, malte, lúpulo, fermento e, em alguns casos, adjuntos de cerveja. Os processos industriais e artesanais seguem essencialmente as mesmas etapas e podem sofrer pequenas alterações devido ao estilo da cerveja. Apesar disso, muitos consumidores atribuem maior qualidade às cervejas artesanais em comparação às industriais. Neste estudo, aplicamos as técnicas analíticas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) e espectrometria de massa (ESI ($\pm$) FT-ICR MS) para discriminar cervejas artesanais de industriais (marcas comuns no mercado brasileiro). Em adicional, as regressões *Partial Least Squares* (PLS) e *Support Vector Machine* (SVR) foram usadas para estimar algumas propriedades da cerveja (pH, acidez total ($\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$), cor (EBC), amargor (IBU), teor de álcool (% v/v) e densidade ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). O uso do IV permitiu a identificação de vibrações atribuídas a compostos químicos comuns às bebidas, como água (3320 e 1640 cm^{-1}), carboidratos (1500 cm^{-1}) e etanol (1050 - 1040 e 875 - 865 cm^{-1}). O RMN de ^1H mostrou boa aplicabilidade na identificação de classes de compostos orgânicos na bebida, onde foram observados sinais atribuídos a álcoois, ácidos orgânicos, carboidratos e aminoácidos. O ESI(+)-FT-ICR MS permitiu a identificação de compostos químicos presentes em bebidas, possibilitando a construção de uma impressão digital das cervejas. Além disso, a aplicação de ferramentas quimiométricas possibilitou a predição de propriedades físico-químicas, apresentando resultados promissores na predição de álcool conteúdo (RMSEC $0,2430$ e RMSEP $0,3929$) e amargor (RMSEC 1.3022 e RMSEP 1.6008), e também na classificação quanto ao processo de fabricação (cerveja artesanal e industrial).

Palavras-chave: cerveja industrial, cerveja artesanal, produção, IV, RMN ^1H , ESI($\pm$)FT-ICR MS, impressão digital, quimiometria, PLS, PCA.

ABSTRACT

Beer is commonly produced with four inputs: water, malt, hops, yeast and, in some cases, brewing adjuncts. Industrial and artisanal processes essentially follow the same steps and may undergo minor changes due to the style of beer. Despite this, many consumers attribute higher quality to craft beer compared to industrial ones. In this study, we applied the analytical techniques of infrared (IR), hydrogen nuclear magnetic resonance (^1H NMR) and mass spectrometry (ESI($\pm$)FT-ICR MS) to discriminate craft beers from industrial ones (brands common to the Brazilian market). In addition, Partial Least Squares (PLS) and Support Vector Machine (SVR) regression were used to estimate some beer properties (pH, total acidity ($\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$), color (EBC), bitterness (IBU), alcohol content (%v/v) and density ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)). The use of the IR allowed the identification of vibrations attributed to chemical compounds common to beverages, such as water (3320 and 1640 cm^{-1}), carbohydrates (1500 cm^{-1}) and ethanol (1050 - 1040 and 875 - 865 cm^{-1}). ^1H NMR showed good applicability in identifying classes of organic compounds in the beverage, where signs attributed to alcohols, organic acids, carbohydrates and amino acids were observed. The ESI(+)-FT-ICR MS allowed the identification of chemical compounds present in beverages, allowing the construction of a fingerprint of the beers. In addition, the application of chemometric tools enabled the prediction of physicochemical properties, presenting promising results in the prediction of alcohol content (RMSEC 0.2430 and RMSEP 0.3929) and bitterness (RMSEC 1.3022 and RMSEP 1.6008), and also in the classification regarding the manufacturing process (craft and industrial beer).

Keywords: Industrial beer, craft beer, production, IR, ^1H NMR, ESI($\pm$)FT-ICR MS, fingerprint, chemometrics, PLS, PCA.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	26
1.1. História da cerveja: um breve resumo	26
1.1.1. A cerveja no Brasil	30
1.2. A cerveja moderna	32
1.3. Ingredientes utilizados na produção da cerveja	37
1.4. Processos químicos envolvidos nas etapas de produção da cerveja	48
1.5. Atividade biológica de compostos presentes na cerveja	61
1.6. Técnicas analíticas empregadas no estudo	66
1.6.1. Infravermelho (IV)	66
1.6.2. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹ H)	69
1.6.3. Espectrometria de massas (EM)	72
1.6.4. Quimiometria	74
1.7. Aplicação das técnicas analíticas voltadas a análise de cervejas	76
2. OBJETIVOS	80
2.1. Objetivo geral	80
2.1. Objetivos específicos	80
3. METODOLOGIA	81
3.1. Amostras	81
3.1.1. Amostras industriais	81
3.1.2. Amostras artesanais	84
3.2. Ensaio e equipamentos	90
3.2.1. Preparo da amostra	90
3.2.2. Propriedades físico-químicas	90
3.2.3. Análises instrumentais	92
3.2.4. Análise quimiométrica	93
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
4.1. Propriedades físico-químicas	95
4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho	100
4.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	102
4.4. Espectrometria de Massas	105
4.4. Análise quimiométrica	115
5. CONCLUSÃO	122
6. REFERÊNCIAS	123

1. INTRODUÇÃO

1.1. História da cerveja: um breve resumo

Os primeiros campos de cultivo surgiram na Ásia por volta do ano 9000 a.C., derivados do abandono da vida nômade do homem pré-histórico. Registros indicam que nesses campos eram cultivados cereais, tais como a cevada, trigo, arroz e aveia, os quais eram colhidos e armazenados em vasos para uso posterior na produção de farinhas e pães (MORADO, 2017).

Uma das teorias para o surgimento da cerveja propõe que os grãos armazenados foram umedecidos pela água da chuva, provocando a germinação dos cereais e, por consequência, a produção de enzimas que atuam na transformação do amido dos grãos em açúcares, formando uma sopa açucarada de cereais. Os micro-organismos presentes no ar (leveduras selvagens) teriam atuado na conversão dos açúcares em álcoois e gás carbônico, resultando em uma bebida fermentada de cereais, a cerveja rudimentar, precursora da consumida atualmente (MORADO, 2017; SPARROW, 2005).

Evidências arqueológicas indicam que as bebidas fermentadas de cereais, estão presentes em nossa civilização há mais de 7.000 anos. Os registros mais antigos derivam em funis de barros, contendo resquícios dessas bebidas, encontrados na Mesopotâmia, atual Iraque, e no norte da China, ambos datados de 5.000 a.C. A cerveja teve importante papel no desenvolvimento cultural, econômico e religioso de diversas sociedades civilizadas (ALWORTH, 2015; MORADO, 2017).

Na Mesopotâmia, os sumérios produziam sua cerveja (*sikaru*) a partir de pães de cevada germinada, possuindo cerca de 20 diferentes tipos de receitas, servindo como remédio, oferenda aos deuses e pagamento aos trabalhadores. Cerca de 40% do total de grãos produzidos eram destinados à produção da bebida. Devido seu considerável papel na sociedade, visando seu controle, a cerveja era produzida sob responsabilidade do Estado (MORADO, 2017).

Registros históricos demonstram a importância da cerveja nessa sociedade. A peça denominada Monumento Blau (4000 a.C.), apresentada na Figura 1.A, registra

a importância religiosa da bebida, a qual retrata a oferta da cerveja a deusa *Nin-Harra*. Além disso, no poema “A epopeia de *Gilgamesh*” (Figura 1.B), dedicado ao rei sumério que viveu em Uruk (2.600 a.C), relata algumas sensações causadas pelo efeito de embriaguez causado pela cerveja, os quais seriam responsáveis pela humanização de *Enkidu*, figura da mitologia mesopotâmica.

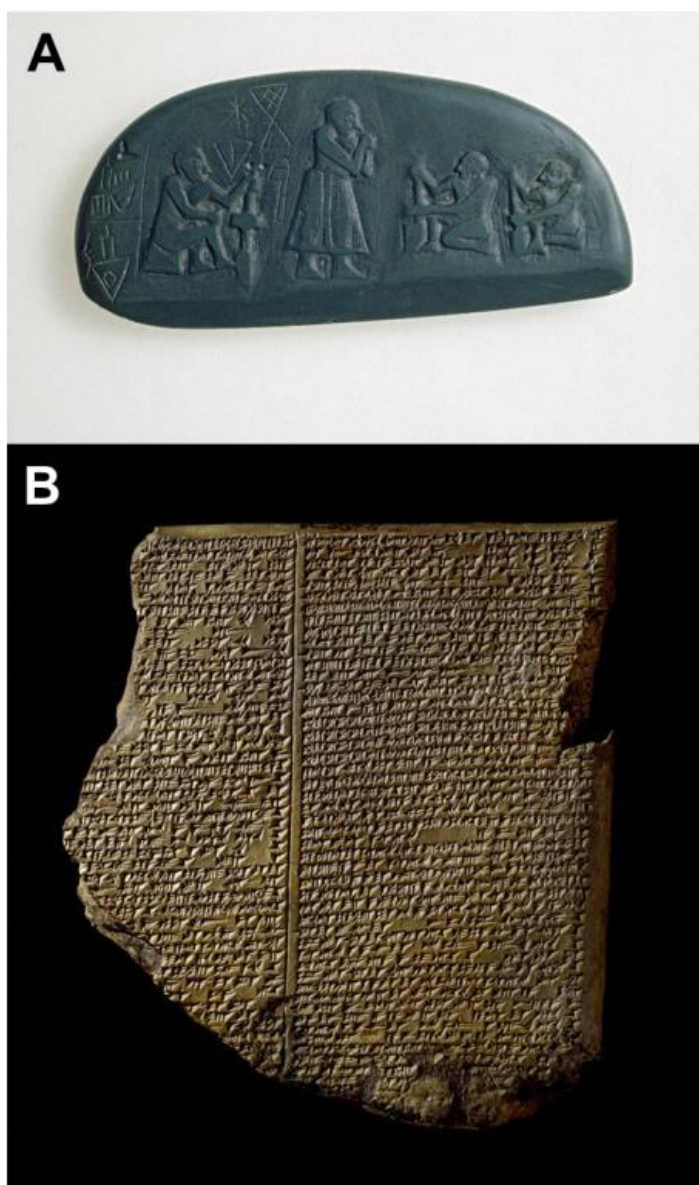


Figura 1. Registros históricos da presença da cerveja nas sociedades antigas. Monumento Blau (A) e a tabuleta contendo a Epopeia de Gilgamesh (B). Adaptado de THE BRITISH MUSEUM, 2018a, 2018b.

No Império Babilônio, sucessor do Sumério, a cerveja tinha grande influência social, sendo regulamentada pelo estado em alguns artigos do Código de Hamurabi. O referido instrumento legal, estabelecia que o pagamento pela bebida não poderia ocorrer em dinheiro, mas somente grãos. Os cervejeiros eram homens de alta reputação social, entretanto, esse prestígio, e sua vida, estariam ameaçados caso

produzissem uma bebida intragável, e a punição para esse crime seria seu afogamento na própria bebida.

Os egípcios também produziam cerveja, sendo a bebida mais popular, comumente chamada de *zythum*. Registros históricos de 2500 a.C (Tábuas de Ebla), indicam a existência de uma cervejaria de larga escala em Tebas. Nela eram produzidos dois tipos de cerveja: a dos notáveis e a dos Tebas. A primeira, destinada aos nobres, consistindo em uma bebida aromatizada com gengibre, tâmara e mel, enquanto que a outra era destinada aos pobres (ALWORTH, 2015).

A chegada da cerveja na Grécia, e posteriormente em Roma, ocorreu através do contato com os egípcios. Durante o Império Romano (27 a.C a 476 d.C.), e sua expansão, a utilização de barris de madeira possibilitou o transporte da bebida por longas distâncias e sua chegada em diversos países da Europa. Nesse processo, a cerveja se popularizou, mas perdeu seu prestígio social por motivos culturais e econômicos. Os romanos tinham como política impor seus costumes aos povos conquistados, sendo eles produtores e apreciadores de vinho, mas que desprezavam a cerveja. Além disso, o vinho possuía associação ao sagrado para judeus e cristãos, enquanto que a cerveja era mal vista por ser relacionada aos egípcios, em especial pelo êxodo dos judeus. Tais fatores sociais, associados ao baixo custo de produção da cerveja, frente aos do vinho, tornaram a cerveja a bebida das classes mais pobres, enquanto que o vinho passou a ser a da elite. A popularização da cerveja resultou em problemas inflacionários, fazendo com que no ano 301 fosse publicado o *Edictum de Prettis Rerum Venalium*, o qual limitava o preço de produtos como o trigo, cevada e cerveja (MORADO, 2017).

Na Idade Média (século V a XV), a produção da cerveja foi, em sua maioria, uma atividade caseira e desempenhada pelas esposas, haja vista que era tratada como um alimento, compondo o cardápio diário das famílias. Nesse período histórico, a produção em maior escala ficou retida a grandes senhores, mosteiros e conventos. As instituições religiosas tiveram grande importância no avanço tecnológico relacionado à produção de cerveja, em especial a partir do século VI com a expansão dos mosteiros pela Europa. Os mosteiros foram responsáveis por avanços tecnológicos relacionados à produção cervejeira, tais como a conservação da bebida a frio e o uso de *gruit*, uma combinação de especiarias usada para aromatizar as

cervejas. A produção da bebida fora dos mosteiros ocorria de forma artesanal, conforme descrito no *Capitulare de Villis*, conjunto de regras publicado pelo Rei Carlos Magno (século VIII), que tratava da administração das terras do Sacro Império Romano-Germânico, reconhecendo o cervejeiro como artesão especializado.

Os mosteiros eram praticamente autossuficientes e, em geral, o excedente da cerveja produzida era distribuída gratuitamente a comunidade, inclusive para crianças, objetivando o combate à fome e também a doenças (febre tifoide e cólera), haja vista que a bebida era isenta desses patógenos por conter álcool. Entretanto, alguns mosteiros produziam cerveja para fins comerciais, dentre eles se destaca a cervejaria mais antiga e ainda em atividade, o mosteiro de Weiherstephan, que produz a bebida desde 1040, cujo rótulo leva a marca com mesmo nome da instituição. A intensificação da urbanização europeia nos séculos XII e XIII estimulou o aumento na demanda por cerveja e, sob pressão dos senhores feudais, a bebida passou a ser um produto comercial, incentivando a criação de cervejarias pela Europa, a especialização da mão de obra fora dos mosteiros e pondo fim a política de distribuição gratuita (MORADO, 2017).

Na Idade Moderna (século XV a XVIII) houve grande enfraquecimento e desmonte da produção cervejeira nos mosteiros, ocasionado pela Reforma Protestante (século XVI) e o enfraquecimento da relação entre Estado e Igreja. Apesar disso, nos países católicos, a cerveja ganha relevância entre os fieis devido a aprovação, em 1662, pelo papa Alexandre VII, da ingestão de cerveja (e algumas outras bebidas) durante as penitências, considerando que esses líquidos não quebravam o jejum. Vale destacar que, nessa autorização não estava o vinho.

Nesse momento, a produção da bebida já possuía grande controle do Estado, visando critérios de qualidade, mas também econômicos, por ser grande geradora de impostos. A Lei de Pureza de 1516 (*Reinheitsgebot*), originário da Baviera, é o marco legal de maior notoriedade na história da cerveja, ela estabelecia que os únicos elementos permitidos na fabricação de cerveja seriam a água, o malte de cevada e o lúpulo.² Além de padronizar a produção cervejeira, a *Reinheitsgebot*, alcançou outros dois objetivos, o primeiro, impedir o uso do trigo na bebida e conter a inflação nos preços do cereal, o qual era usado para produção de alimentos, enquanto que o emprego do lúpulo, visava atender pressões de movimentos protestantes contra o

monopólio do *gruit* produzido nos mosteiros. Em 1906, a Lei era aplicada em todo Império Alemão, contemplando em seu escopo as leveduras, graças aos avanços na microbiologia, promovidos pelo químico Gay-Lussac (1815) e o cientista Louis Pasteur (1859) (PALMER, 2017).

A *Reinheitsgebot* perdurou até o século XX, sua revogação ocorreu após a segunda guerra mundial impulsionada pela globalização, forçando os fabricantes alemães se adequarem ao paladar de consumidores que preferiam cervejas mais leves, mas também a redução de custos através da substituição do malte de cevada.

A cerveja conhecida atualmente é resultante de um processo histórico, cultural e científico, o qual pode ser ilustrado na linha do tempo apresentado na Figura 2.

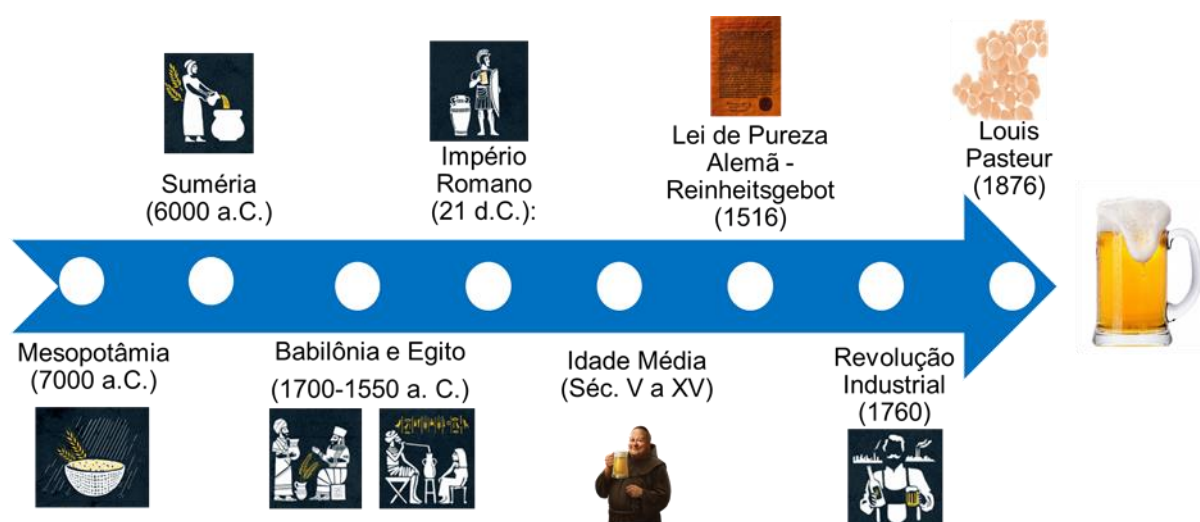


Figura 2. Linha do tempo da cerveja: da cerveja rudimentar a cerveja moderna.

1.1.1. A cerveja no Brasil

A chegada da cerveja no Brasil ocorreu no século XVII, trazida pela Cia das Índias Orientais com os holandeses. A primeira cervejaria foi instalada em Fortaleza no ano de 1640 por Maurício de Nassau cujas atividades foram encerradas em 1954 com a expulsão dos holandeses do Brasil. Devido a esse processo, e ao pacto colonial, a bebida desapareceu de solo brasileiro por quase 150 anos. (MORADO, 2017).

A cerveja retorna ao Brasil em 1808 com chegada da Família Real Portuguesa ao país e, por consequência, a assinatura do Decreto emitido por d. João que determinava a abertura dos portos do Brasil em 28 de janeiro de 1808. Num primeiro

momento, a abertura dos portos favoreceu fortemente a Inglaterra, fazendo com que o mercado local fosse inundado de grandes levas de cervejas inglesas e, devido aos baixos impostos de importação, não favoreceu a o desenvolvimento de fábricas locais, apenas iniciativas de produção de cervejas artesanais, para consumo próprio, em especial, nos estados do sul e do sudeste.

No final do século XIX, após a década de 1870, o governo brasileiro quadruplicou os impostos sobre a importação, o que estimulou o surgimento de cervejarias nacionais. Contudo, devido a falta de insumos, principalmente o lúpulo e a cevada, que não era produzidos no Brasil, as cervejarias nacionais contornavam esse problema com o uso de outros cereais, tais como arroz, milho, trigo e etc. (MORADO, 2017).

As marcas mais tradicionais ao mercado brasileiro têm sua história iniciada em:

- 1853 – Bohemia
- 1888 – Antarctica
- 1888 – Brahma
- 1966 – Cerpa
- 1967 – Skol
- 1980 – Kaiser
- 1982 – Malta
- 1986 – Bavaria
- 1989 – Schincariol
- 1993 – Ashby
- 1994 – Itaipava
- 1995 – Colorado
- 1997 – Krug Bier
- 1999 – Baden Baden
- 1999 – Backer
- 2002 - Eisenbahn

No ano de 1999 ocorre a fusão da Cia Antarctica Paulista e a Cia Cervejaria Brahma, surgindo a AmBev (Cia de Bebidas das Américas) que, posteriormente, fundiu-se com a belga Interbrew formando Belgo-Brasileira InBev, umas das maiores

cervejarias globais. (MORADO, 2017).

A chegada, em 2010, da cervejaria Heineken ao Brasil resultou na fusão de diversas cervejarias. Em 2017 ela comprou a cervejaria Brasil Kirin, trazendo para o portfólio cervejas como a Baden Baden, Schin, Devassa, Glacial, Eisenbahn e etc.

1.2. A cerveja moderna

A cerveja moderna pode ser definida como uma bebida fermentada de cereais produzida a partir de quatro ingredientes básicos: a água, malte, lúpulo, levedura e, em alguns casos, adjuntos cervejeiros (DOS SANTOS BERNARDI et al., 2019). Atualmente, a cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no Brasil e no mundo. Quando comparada às demais bebidas, ocupa a terceira colocação, estando atrás apenas do chá e da água (ALWORTH, 2015; HORNSEY, 2016; MORADO, 2017; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

O elevado consumo de cerveja resulta em um mercado que, em 2019, teve faturamento próximo a 587 bilhões de dólares americanos (US\$), resultado de uma produção mundial levemente superior a 191,30 bilhões de litros. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial da bebida (Figura 3), atrás apenas de China e Estados Unidos. Em 2019, a produção brasileira foi de 14,47 bilhões de litros, movimentando cerca de 77 bilhões de reais, o que corresponde a, aproximadamente, 2% do PIB brasileiro (BARTH-HAAS GROUP, 2019; SINDCERV, 2021; STATISTA, 2020).

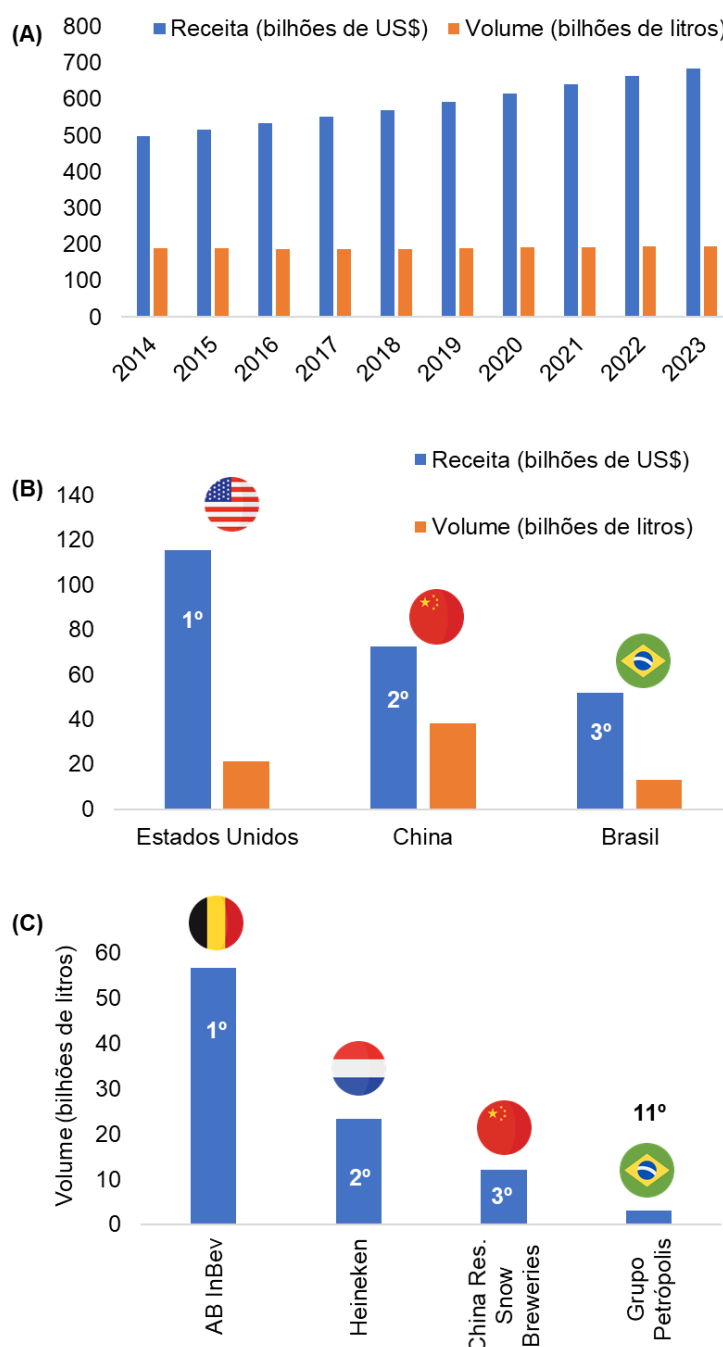


Figura 3. (A) Dados do setor cervejeiro brasileiro e mundial em 2019 com estimativas para 2023. (B) Produção *versus* faturamento, em 2019, dos três maiores países produtores de cerveja. (C) Produção, em 2019, das cinco maiores cervejarias do mundo com destaque para a única cervejaria brasileira apresentada no *ranking* mundial. Em ambos a produção é expressa em bilhões de litros de cerveja e o faturamento em bilhões de dólares (US\$) (BARTH-HAAS GROUP, 2019; SINDCERV, 2021; STATISTA, 2020).

No Brasil, observa-se um aumento expressivo no número de cervejarias. Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, o país encerrou o ano de 2020 com 1383 cervejarias autorizadas (Figura 4), concentradas, principalmente, nas regiões Sul e Sudeste (Figura 5). As projeções do

MAPA é que em 2025 o Brasil possua até 7504 cervejarias autorizadas (BRASIL, 2021).

É importante destacar que, somente entre os anos de 2018 a 2020, o número de cervejarias registradas no MAPA teve aumento superior a 100%, quando comparado a somatória de registros de 2000 a 2017 (BRASIL, 2021), indicando a força do setor no Brasil. Nesses anos, não foram registrados anúncios expressivos de novas plantas fabris pelas grandes cervejarias nacionais e multinacionais, responsáveis pela produção de cervejas de larga escala, também denominadas de cervejas industriais (REVISTA BEER ART, 2019). Desta forma, esse aumento está fortemente relacionado à expansão de cervejarias independentes e que produzem cerveja em pequena escala, comumente conhecidas como artesanais (CERVBRASIL, 2019), as quais representam, aproximadamente, 2,7% do volume comercializado no país (LAPOLLI, 2019).

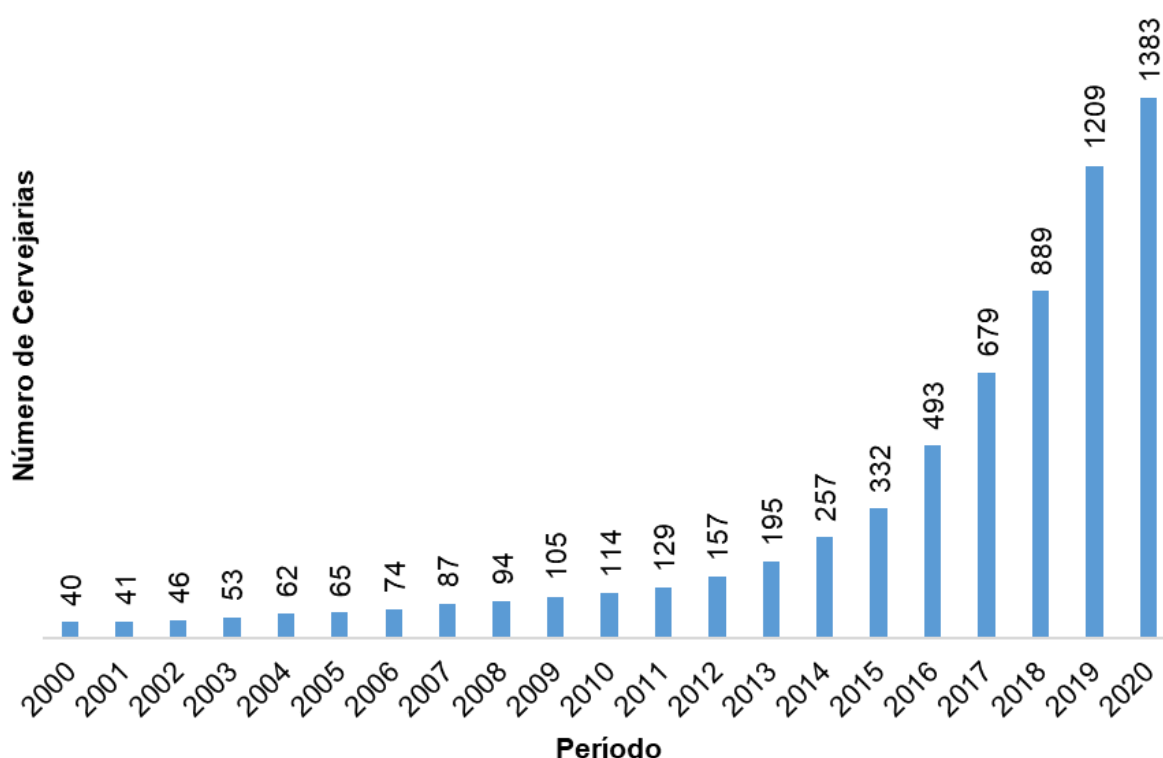


Figura 4. Número de cervejarias registradas, por ano, no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. (BRASIL, 2021)

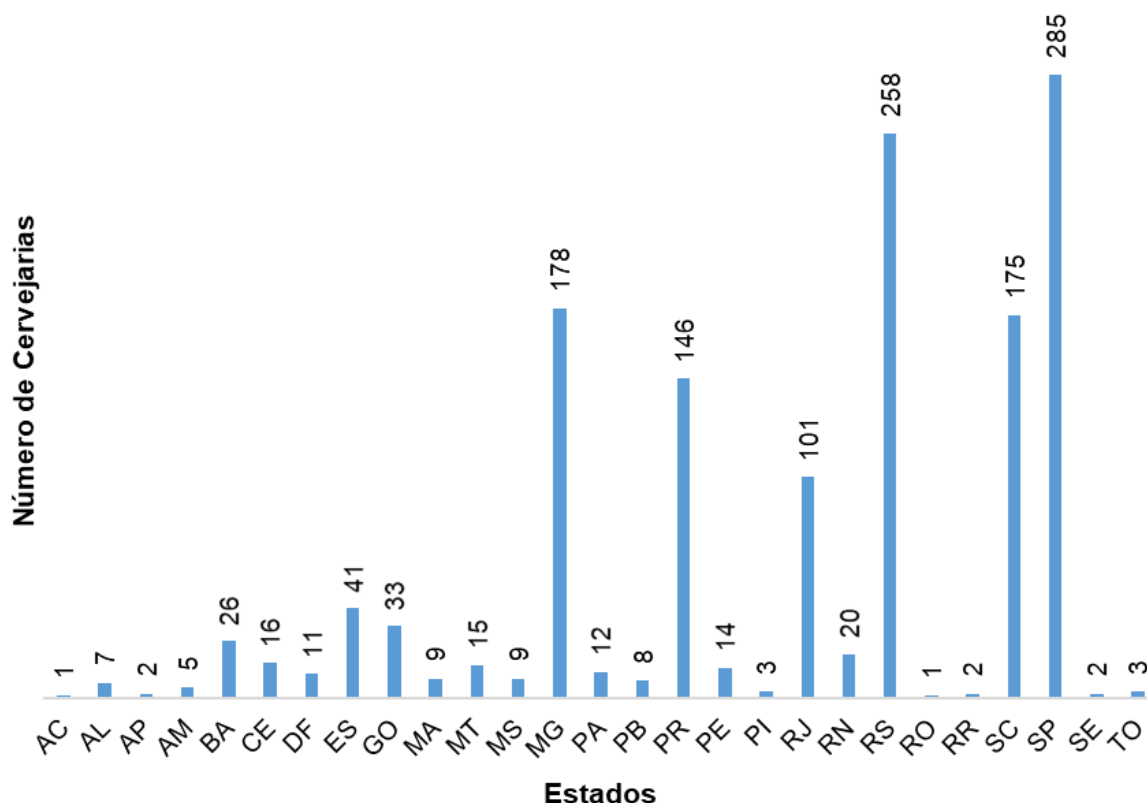


Figura 5. Número de cervejarias registradas, por unidade da federação, em 2020, no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. (BRASIL, 2021)

A legislação brasileira não estabelece uma distinção entre cerveja artesanal e industrial (BRASIL, 2009, 2019a). Segundo a ABRACERVA, a cerveja artesanal é aquela especial, que preza pela qualidade, ligada a cervejarias independentes, registradas no MAPA, sem ligação com grandes grupos econômicos e que produz, no máximo, 416 mil litros/mês (ABRACERVA, 2018). Essa definição guarda alinhamento com a *Brewers Association*, uma associação norte americana de cervejeiros artesanais, que define a cerveja artesanal como aquela produzida por uma cervejaria independente, com menos de 25% da empresa sob propriedade de um membro da indústria de bebidas alcoólicas, com volume inferior a 714 milhões de litros/ano, cuja produção deve ser voltada a inovação, através da releitura de estilos clássicos e desenvolvimento de novos, mantendo foco na qualidade dos insumos tradicionais e no sabor no produto final (BREWERS ASSOCIATION, 2021).

Com base em sites especializados e de cervejarias brasileiras pode-se ampliar essa definição, sendo a cerveja artesanal aquelas produzidas em pequena escala, cujo foco está na qualidade, possuindo baixa automação, no qual o cervejeiro atua desde a criação de uma receita exclusiva, a escolha dos ingredientes, etapas de

fabricação e chegada ao consumidor. Comumente, os insumos são de maior qualidade, variedade e valor agregado, objetivando a produção de aromas e sabores únicos, fazendo com que o custo de produção da cerveja artesanal seja mais alto, quando comparado a cerveja industrial. Enquanto a cerveja industrial, como aquela produzida em larga escala para alta distribuição, num processo automatizado e acelerado, pode durar apenas um dia. Essas cervejas, em geral, possuem processos e ingredientes que visam menor custo possível com intuito de tornar o produto acessível a maior parcela da população, com isso, normalmente, 40% do malte de cevada é substituído por outros cereais de menor valor (CERVEJARIA FARRAPOS, 2021; CERVEJARIA LEOPOLDINA, 2021; CERVESIA, 2021; CLUBE DO MALTE, 2021; HOMINI LÚPULO, 2018; SAPATISTA, 2020).

A importância econômica e cultural da cerveja tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas sobre a bebida. Na literatura científica são encontrados diversos estudos referentes ao tema, em sua maioria, em língua inglesa. No escopo da química, os trabalhos são voltados ao emprego de técnicas analíticas, aplicadas a autenticação de alimentos, monitoramento de processos produtivos e caracterização da bebida. A maior quantidade de estudos publicados sobre o tema envolve o emprego da espectroscopia na região do infravermelho (IV) médio e próximo (BIANCOLILLO et al., 2014; DUARTE et al., 2004; FERNÁNDEZ PIERNA et al., 2012; GHASEMI-VARNAMKHAHI; FORINA, 2014; GIOVENZANA; BEGHI; GUIDETTI, 2014; GRASSI et al., 2014; MIGNANI et al., 2013; PINTO et al., 2015; POLSHIN et al., 2011), a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H) (ALMEIDA et al., 2006; DA SILVA et al., 2019; DUARTE et al., 2002, 2003; KHATIB et al., 2006; KUBALLA et al., 2018; PETERSEN et al., 2014; RODRIGUES et al., 2011, 2010a), a espectrometria de massas (EM) (ANDRÉS-IGLESIAS et al., 2014; ARAÚJO et al., 2005; MARTÍNEZ-HUÉLAMO et al., 2014; PEREIRA et al., 2016) e a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) (ČULÍK et al., 2013; GUERRINI et al., 2018; HIRALAL; OLANIRAN; PILLAY, 2014; KISHIMOTO et al., 2018; LANGOS; GRANVOGL, 2016; RASCÓN; AZZOUZ; BALLESTEROS, 2019). Dentre elas, o IV, têm-se mostrado uma técnica versátil na análise de cervejas. No estudo de Giovenzana e colaboradores (GIOVENZANA; BEGHI; GUIDETTI, 2014) a técnica foi empregada para determinação de pH, enquanto que MIGNANI e colaboradores (2013) obtiveram sucesso com a utilização da técnica na validação de cervejas belgas.

Ghasemi-Varnamkhasti e colaboradores (GHASEMI-VARNAMKHAISTI; FORINA, 2014) utilizaram o IV para monitorar o envelhecimento da bebida. Nos estudos de Almeida e colaboradores (ALMEIDA et al., 2006), Rodrigues e colaboradores (RODRIGUES et al., 2010a) e Petersen e colaboradores (PETERSEN et al., 2014), foi possível notar que o uso de RMN ^1H tem boa aplicação na determinação da composição da bebida, em especial, na identificação de carboidratos. Entretanto, mais recentemente no trabalho de Silva e colaboradores (RODRIGUES et al., 2011) foi apresentado o emprego desta técnica na discriminação de cervejas *lager* brasileiras. A aplicação de EM tem se mostrado promissora na identificação de falsificação de cervejas, conforme abordado no estudo de Pereira e colaboradores (PEREIRA et al., 2016). O uso da técnica CG-EM tem se mostrado eficaz na identificação de compostos voláteis presentes na bebida, como abordado recentemente por Guerrini e colaboradores (GUERRINI et al., 2018), Kishimoto e colaboradores (KISHIMOTO et al., 2018) e Silva e colaboradores (DA SILVA et al., 2015). Além dessas, outras técnicas já foram empregadas na análise de cervejas, como no estudo de Ghasemi-Varnamkhasti (GHASEMI-VARNAMKHAISTI et al., 2012), onde foi desenvolvida uma língua eletrônica para monitorar o envelhecimento da bebida, e no trabalho de Yamauchi e colaboradores (J. et al., 1995) no qual foi empregada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de ultravioleta (UV) para esse mesmo fim.

Neste sentido, esta introdução tem como objetivo reunir informações presentes na literatura científica, voltada a apresentação dos ingredientes, aspectos químicos envolvidos nas etapas de produção cervejeira, as propriedades físico-químicas, propriedades biológicas que os compostos da bebida possuem, assim como as técnicas analíticas empregadas em sua análise.

1.3. Ingredientes utilizados na produção da cerveja

A água é o ingrediente majoritário na bebida, por isso suas propriedades químicas podem interferir no sabor do produto final. Em geral, deseja-se da água cervejeira um pH entre 5 e 7, faixa que contribui para um bom processo enzimático do malte durante a produção da bebida. Em geral, a presença de sais na água é desejada e contribui na qualidade da cerveja, conforme exposto na Tabela 1 (HARRISON; ALBANESE, 2017; PHILPOTT; TAYLOR; WILLIAMS, 1997; SUPELCO, 2017; ULLOA

et al., 2017). Ressalta-se que essas informações (Tabela 1) correspondem a parâmetros gerais, os quais podem sofrer alguma variação dependendo do estilo da cerveja (BAMFORTH, 2004; BETTENHAUSEN et al., 2018; GALAFASSI et al., 2011; PALMER, 2017; WUNDERLICH; BACK, 2009).

O segundo ingrediente utilizado é o cereal. A cevada, *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), uma gramínea cerealífera de inverno, é a mais empregada na indústria cervejeira e, em geral, na forma maltada. A maltagem do grão é um processo que consiste, inicialmente, no aumento da umidade do grão, cerca de 12% para 45%, mantendo-a de 3 a 4 dias a 16 °C. Este processo estimula a germinação do cereal, conferindo-lhe enzimas necessárias para a transformação de açúcares insolúveis em água, que estão presentes no endosperma do grão (β -glucanos), em açúcares solúveis e fermentáveis. Após esse período, o processo é interrompido através do aquecimento e torra dos grãos, processo que garante a remoção da umidade do grão, colaborando na sua conservação e manutenção das propriedades enzimáticas (BROOKES; LOVETT; MACWILLIAM, 1976; EVANGELISTA et al., 2005; EVANS et al., 1997; FINCHER, 1989; HUGHES, 2001; JÉGOU et al., 2001; MACLEOD; EVANS, 2016).

Tabela 1. Atuação dos principais íons que interferem nas propriedades organolépticas das cervejas.

Íon	Concentração típica (mg·L ⁻¹)	Atuação do íon
Ca ²⁺	50 a 150	Participa do metabolismo das leveduras e auxilia na clarificação e estabilização da cerveja (BETTENHAUSEN et al., 2018; GALAFASSI et al., 2011; PALMER, 2017).
Mg ²⁺	10 a 30	Contribuição similar ao cálcio e é importante nutriente para leveduras. Concentrações acima de 125 mg·L ⁻¹ tem efeito laxante (BAMFORTH, 2004; BETTENHAUSEN et al., 2018; GALAFASSI et al., 2011; PALMER, 2017).
HCO ₃ ¹⁻	Até 50	Neutralização da acidez do malte, podendo elevar a basicidade do mosto (BAMFORTH, 2004; BARTH, 2013; BETTENHAUSEN et al., 2018; WUNDERLICH; BACK, 2009).
SO ₄ ²⁻	50 a 150	Na forma de sulfatos de Ca ²⁺ e Mg ²⁺ contribui para acentuar o amargor. Em cervejas muito amargas a concentração pode chegar até 350 mg·L ⁻¹ . Quando superior a 400 mg·L ⁻¹ causa sabor adstringente e a 750 mg·L ⁻¹ diarreia (BAMFORTH, 2004; BARTH, 2013; PALMER, 2017).
Na ¹⁺	Até 150	Acentua o sabor adocicado do malte, acima desse valor tornará o sabor salgado (BARTH, 2013; PALMER, 2017).
Cl ⁻	Até 250	Acentua o sabor adocicado do malte quando combinado com Na ¹⁺ . Quando derivado do processo de tratamento de água, deve ser eliminado, pois resultará em aroma “medicinal” (clorofenol) na bebida (BARTH, 2013; PALMER, 2017).
NO ₃ ⁻	Até 44	Considerado um contaminante na água cervejeira. Durante a fermentação pode ser convertido a nitrito, o qual é tóxico às leveduras, interrompendo a fermentação (BAMFORTH, 2004; BARTH, 2013; BETTENHAUSEN et al., 2018; GALAFASSI et al., 2011; PALMER, 2017; WUNDERLICH; BACK, 2009).
NO ₂ ⁻	Até 3	Interrompe a fermentação por ser tóxica às leveduras. Sua ingestão é considerada tóxica para a maior parte dos animais (BAMFORTH, 2004; BARTH, 2013; BETTENHAUSEN et al., 2018; GALAFASSI et al., 2011; PALMER, 2017; WUNDERLICH; BACK, 2009).

A temperatura de torra do malte irá influenciar diretamente na coloração da cerveja (Figura 6). Em geral, os maltes claros são torrados a 45 °C por 30 minutos, e posteriormente aquecidos a 85 °C por 24 horas, sendo comumente utilizados no preparo de cervejas claras (≤ 20 EBC). O emprego de temperaturas inferiores a 100 °C garante a integridade das enzimas presentes no malte, proporcionando maior desempenho na obtenção de açúcares fermentáveis. Nos maltes mais escuros, a torra pode ocorrer a temperaturas superiores a 200 °C, sendo empregados na produção de cervejas com cores intensas. No entanto, esse processo de aquecimento degrada grande parte das enzimas do malte e, por esse motivo, são usados em pequenas quantidades durante a produção da bebida. O malte irá influenciar diretamente no teor alcoólico, na formação de espuma e em parte do sabor e do aroma das cervejas (HAMPSON, 2008; HIPPELI; ELSTNER, 2002; HUGHES, 2001; MACLEOD; EVANS, 2016). Além da cevada, outros cereais podem ser malteados e utilizados na produção de bebidas fermentadas. Dentre eles, o arroz, o qual pode ser usado na produção de uma bebida isenta de glúten, possibilitando sua ingestão por pessoas celíacas (CECCARONI et al., 2019; DI GHIONNO et al., 2017; PRESTES et al., 2019).



Figura 6. (A) Característica visual do malte quando submetidos a diferentes temperaturas de torra e (B) sua influência na coloração final da cerveja. (CARUSO, 2017; CENTRAL BREW, 2021)

Na produção cervejeira podem ser utilizados adjuntos tais como frutas, legumes, especiarias e cereais destinados ao consumo humano, sendo eles uma alternativa à substituição de parte do malte de cevada ou em acréscimo a ele (BARTH, 2013; BRASIL, 2009, 2019a, 2019b). Os adjuntos cervejeiros podem ser usados com o intuito de reduzir custos, aumentar o rendimento alcoólico ou produzir diferentes sabores, cores e aromas à bebida. Trigo e aveia podem ser usados para conferir uma textura levemente viscosa à bebida, colaborando na composição do aroma e sabor, além de ajudar na formação e manutenção de espuma. O milho e o arroz, auxiliam na clareza da bebida, deixando-a mais leve e não interferindo no sabor e aroma. Frutas

(em especial laranja, limão, pêsego, maçã etc.) e especiarias (canela, gengibre, anis estrelado, pimenta etc.) podem ser adicionadas à cerveja, auxiliando na cor, aroma e sabor da bebida. Enquanto que a adição de açúcares (rapadura, mel, xaropes etc.) contribuem para aumentar o rendimento alcoólico. A utilização de xaropes de maltose derivados do milho e arroz podem ser usados pelas grandes cervejarias como alternativa a padronização do produto e redução de custos (BARTH, 2013; D'AVILA et al., 2012; KUNZE, 2004; MACLEOD; EVANS, 2016; MORADO, 2017; ROSA; AFONSO, 2015).

No entanto, a utilização desses adjuntos pode sofrer restrições em função da legislação do país em que a cerveja será produzida. Na Alemanha, perdurou de 1516 a 1987 a *Reinheitsgebot* (Lei de Pureza), a qual estabelecia que a cerveja deveria ser produzida apenas com água, malte de cevada e lúpulo. Devido à competição resultante da globalização, as produtoras alemãs de cerveja buscaram formas de reduzir seu custo de produção e também de adequar suas bebidas ao paladar de outros países, o que combinado com a pressão da União Europeia, resultou na revogação da Lei de Pureza. Atualmente, a legislação alemã (Lei Provisória da Cerveja de 1993) permite a utilização de alguns adjuntos cervejeiros, tais como açúcar (cana e beterraba) e amido, mas mantém o veto ao uso de cevada não maltada (ALWORTH, 2015; MORADO, 2017).

No Brasil, o Decreto N° 6.871/2009 (BRASIL, 2009), e suas alterações por meio do Decreto N° 9.902/2019 (BRASIL, 2019a) estabelece que na produção cervejeira parte do malte de cevada poderá ser substituída por adjuntos cervejeiros de origem vegetal e animal. Além disso, a Instrução Normativa N° 65/2019 (BRASIL, 2019b) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento define uma diferenciação no nome da bebida em função da proporção de malte de cevada em relação aos outros ingredientes, conforme exposto no Esquema 1.

Esquema 1. Definição dos tipos de cerveja, segundo a legislação brasileira, em função dos ingredientes usados em sua produção.⁷⁰

Tipo de Cerveja x Definição	
Cerveja puro malte	→ Elaborada exclusivamente com cevada maltada.
Cerveja	→ Cerveja cujo extrato primitivo contém um mínimo de 55% em peso de cevada maltada. O mel e os ingredientes de origem vegetal, fontes de amido e de açúcares ficam limitas a até 25% em peso.
Cerveja de "nome do cereal"	→ Elaborada majoritariamente com adjuntos cervejeiros, mas com um mínimo de 20% em peso de malte de cevada, ou de outro cereal, no extrato primitivo. Quando dois ou mais cereais contribuírem com a mesma quantidade para o extrato primitivo, todos devem ser citados.
Cerveja puro malte de "nome do malte"	→ Elaborada exclusivamente com cereais maltados, exceto malte de cevada.
Cerveja escura ou preta adoçada ou Malzbier	→ Cerveja escura ou preta adicionada de açúcares de origem vegetal, para conferir-lhe sabor doce. O açúcar não deve compor o extrato primitivo para a fermentação e não deve ser considerado como adjunto para efeito de cálculos

O lúpulo (Figura 7), *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae), outro ingrediente fundamental na produção da cerveja, é uma planta trepadeira nativa de regiões de clima temperado, existindo diversas variedades no globo terrestre (HUGHES, 2001; KARABÍN et al., 2016; KAVALIER et al., 2014). Na inflorescência do lúpulo feminino (cones) são encontradas glândulas ricas em lupulina (Figura 8), uma substância amarelada constituída principalmente por polifenóis, α -ácidos e β -ácidos (KAVALIER et al., 2014). Essas substâncias irão influenciar diretamente no sabor, aroma, estabilização da espuma e conservação da bebida. Além disso, também possuem valor biológico, tendo ação antibacteriana, antitumoral, antioxidante e antimutagênica (KARABÍN et al., 2016; KAVALIER et al., 2014; KIRKPATRICK; SHELLHAMMER, 2018; MALIAROVA et al., 2013; MUDURA; COLDEA, 2015).

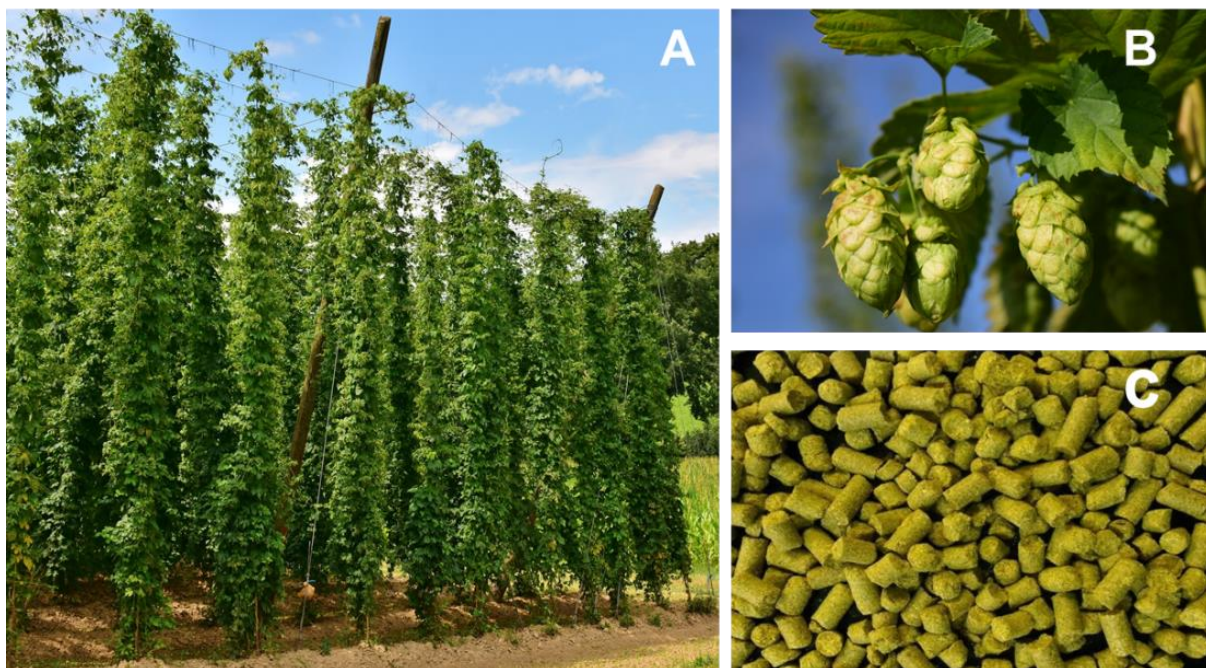


Figura 7. Cultivo comercial de *Humulus lupulus* (A). Sua flor, o Lúpulo (B) é ingrediente básico de todas as cervejas, normalmente comercializado na forma de *pellets* (C). (LEONE, 2018; RITA, 2018)



Figura 8. Corte transversal evidencia a presença das glândulas, em amarelo, com lupulina. (HAMPSON, 2008)

Os α -ácidos e β -ácidos, cujas estruturas mais comuns são representadas na Figura 9, são os responsáveis por conferir o amargor à cerveja, sendo que o primeiro tem maior influência nessa característica. Lúpulos que possuem concentração em massa superior a 10% de α -ácidos são denominados de “lúpulos de amargor”, enquanto os que possuem quantidade inferior a 5% desse ácido são chamados de “lúpulos de aroma” (SALANTĂ et al., 2016).

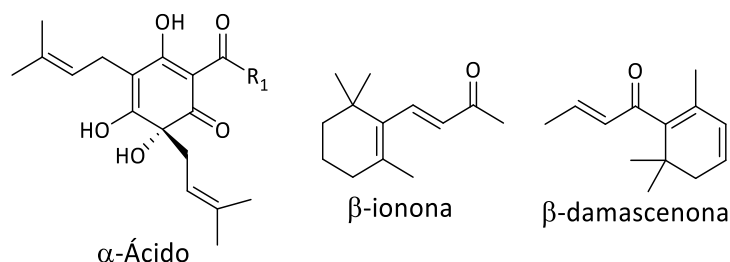


Figura 9. Estrutura genérica de um α -ácido (Humulona), e de dois β -ácidos que podem ser encontrados no lúpulo, a β -ionona e a β -damascenona.(HUGHES, 2001)

Atualmente, se tem conhecimento da existência de mais de 1500 variações de leveduras. Contudo, duas delas se destacam: a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Saccharomyces pastorianus*, sendo as mais utilizadas na produção mundial da bebida. As *Ale* (*Saccharomyces cerevisiae*), ou de alta fermentação (do inglês, *top fermented*), recebem essa denominação pois, durante a fermentação, podem se combinar ao CO_2 e ser arrastadas para a superfície do líquido. Além disso, em geral, têm melhor desempenho entre 14 a 25 °C, temperaturas mais elevadas quando comparadas às *Lagers*, resultando em cervejas com sabor frutado, devido aos ésteres formados durante a fermentação (HOLT et al., 2018; KUNZE, 2004; PALMER, 2017; SPARROW, 2005).

As *Lagers* (*Saccharomyces pastorianus*) é um híbrido entre a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Saccharomyces eubayanus*. Essas leveduras são denominadas como de baixa fermentação (do inglês, *bottom fermented*). Elas recebem essa denominação pois, normalmente, as leveduras estão situadas no fundo do recipiente após a fermentação. Seu melhor desempenho, em geral, acontece entre 4 a 18 °C, temperaturas inferiores quando comparadas as *Ales*, propiciando a formação de uma baixa concentração de ésteres, resultando em cervejas com sabores maltados (contribuição do malte). As *Lagers* são empregadas em, aproximadamente, 90% das cervejas produzidas no mundo (GONÇALVES et al., 2016). O desempenho das leveduras está ligado à conversão de açúcares em etanol e gás carbônico com baixa produção de compostos indesejados (GONÇALVES et al., 2016; HOLT et al., 2018; KUNZE, 2004; PALMER, 2017; SPARROW, 2005).

As cervejas podem ser classificadas usando diversos critérios. Uma das classificações mais aceitas no mundo é a do programa de certificação de Juiz de cerveja (BJCP, do inglês *Beer Judge Certification Program*). A Tabela 2 apresenta as características gerais dos estilos mais comuns de cerveja, adaptada do BJCP

(ALWORTH, 2015; HUGHES, 2001; MEUSSDOERFFER, 2009; MORADO, 2017).

Tabela 2. Propriedades organolépticas e físico-químicas de estilos mais comuns de cervejas (ALWORTH, 2015; HARRISON; ALBANESE, 2017; HUGHES, 2001; MEUSSDOERFFER, 2009; MORADO, 2017; SPARROW, 2005).

Estilo	Propriedades organolépticas	Propriedades físico-químicas
<i>English Pale Ale</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa com baixo a moderado aroma de malte, com um leve perfil de caramelo. Amargor moderado. Notas de pão, biscoito ou leve tostado. O aroma de lúpulo varia de moderado a nenhum, tipicamente com caráter floral, terroso, resinoso e/ou frutado. Cor amarelo dourado. Geralmente não apresenta diacetil, embora seja permitido em níveis baixos. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 25 - 35 IBU Cor: 15 - 27 EBC Teor Alcoólico: 3,2 - 3,8%
<i>American Pale Ale</i>	Uma <i>Ale</i> americana com moderado a forte a amargor. Aroma de variedades de lúpulo e com uma vasta gama de possíveis características, incluindo cítricos, floral, pinho, resina, especiarias, frutas tropicais ou melão. Baixo a moderado sabor maltado pode mostrar, opcionalmente, pequenas quantidades de caráter de maltes especiais (de pão, torradas, biscoito, caramelo). Cor amarelo dourado. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 30 - 50 IBU Cor: 9 - 19 EBC Teor Alcoólico: 4,5 - 6,2%
<i>Saison</i>	Uma <i>Ale</i> belga clara, refrescante, moderadamente amarga e com um final muito seco. Altamente carbonatada. Aromas e sabores frutados e condimentados. Normalmente, é produzida com semente de coentro, raspas de limão siciliano, casca de laranja e cravo. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 20 - 35 IBU Cor: 9 - 27 EBC (pálida) ou 29 - 43 EBC (obscura) Teor Alcoólico: 3,5 - 9,5%
<i>Eisbock</i>	Uma <i>Lager</i> alemã escura, forte, maltada, muitas vezes com uma consistência viscosa e sabores fortes. Nela o álcool deve-se apresentar macio e quente, nunca queimante.	Amargor: 25 - 35 IBU Cor: 37 - 59 EBC Teor Alcoólico: 9,0 - 14,0%
<i>Oatmeal Stout</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa maltada, tostada, muito escura e encorpada, com um sabor de aveia complementar. O dulçor, o equilíbrio e a impressão de aveia podem variar consideravelmente.	Amargor: 25 - 40 IBU Cor: 43 - 79 EBC Teor Alcoólico: 4,2 - 5,9%
<i>Munich Dunkel</i>	Uma <i>Lager</i> Alemã caracterizada pela intensidade, riqueza e complexidade típica dos maltes mais escuros, acompanhada por produtos das reações de Maillard. Sabores de casca de pão, a maioria com notas de chocolate, mas nunca de torrado, áspero ou adstringente.	Amargor: 18 - 28 IBU Cor: 27 - 55 EBC Teor Alcoólico: 4,5 - 5,6%

Tabela 2. Continuação.

Estilo	Propriedades organolépticas	Propriedades físico-químicas
<i>Oatmeal Stout</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa maltada, tostada, muito escura e encorpada, com um sabor de aveia complementar. O dulçor, o equilíbrio e a impressão de aveia podem variar consideravelmente.	Amargor: 25 - 40 IBU Cor: 43 – 79 EBC Teor Alcoólico: 4,2 - 5,9%
<i>Munich Dunkel</i>	Uma <i>Lager</i> Alemã caracterizada pela intensidade, riqueza e complexidade típica dos maltes mais escuros, acompanhada por produtos das reações de Maillard. Sabores de casca de pão, a maioria com notas de chocolate, mas nunca de torrado, áspero ou adstringente.	Amargor: 18 - 28 IBU Cor: 27 – 55 EBC Teor Alcoólico: 4,5 - 5,6%
<i>American Light Lager</i>	Uma <i>Lager</i> americana altamente carbonatada. Com corpo muito leve. São projetadas quase sem sabor e para serem consumidas bem geladas.	Amargor: 8-12 IBU Cor: 4 – 6 EBC Teor alcoólico: 2,8-4,2%
<i>Pilsener</i>	Uma <i>Lager</i> com origem na República Tcheca. Baixo amargor com sabor e aroma que remetem ao lúpulo. Cor amarelo dourado. No Brasil, são conhecidas como Pilsen. São projetadas quase sem sabor e para serem consumidas bem geladas.	Amargor: 6 - 12 IBU Cor: 7 - 12 EBC Teor alcoólico: 4,0 - 5,0%
<i>Schwarzbier</i>	Uma <i>Lager</i> alemã escura que balanceia os sabores torrados e suaves de malte com um moderado amargor do lúpulo. O corpo leve contribui para que esta cerveja seja muito fácil de beber.	Amargor: 20 - 30 IBU Cor: 33 - 59 EBC Teor alcoólico: 4,4 – 5,4%
<i>Irish Red Ale</i>	Uma <i>Ale</i> irlandesa, ligeiramente maltada, às vezes apresenta um suave dulçor inicial de caramelo/toffee. No paladar, notas de grãos, biscoito e tostada no final. Algumas versões podem destacar mais o caramelo e o dulçor, enquanto que outras favorecem o paladar de grãos e o tostado. Amargor moderado e cor cobre-avermelhada. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 18 - 28 IBU Cor: 17 – 27 EBC Teor Alcoólico: 3,8 - 5,0%
<i>English Porter</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa de cor marrom com um caráter torrado e amargo. Pode ter uma variedade de sabores torrados, sem notas de sabores queimados. Muitas vezes com um perfil de malte-caramelo chocolate.	Amargor: 18 - 35 IBU Cor: 39 – 59 EBC Teor Alcoólico: 4,0 - 5,4%

As cervejas do estilo *Lambic*, também denominadas de cervejas de fermentação espontânea, são produzidas com leveduras presentes na atmosfera (leveduras selvagens) e, em sua produção, a bebida fica em constante contato com o ar atmosférico. Além disso, na fermentação também pode ser utilizada uma mistura (*blend*) de diferentes leveduras ou a combinação delas com lactobacilos (ALWORTH, 2015; DOS SANTOS BERNARDI et al., 2019; HOLT et al., 2018).

1.4. Processos químicos envolvidos nas etapas de produção da cerveja

A produção da cerveja pode ser descrita em sete etapas: moagem, mostura, fervura, fermentação, maturação, filtração e envase (Figura 10).

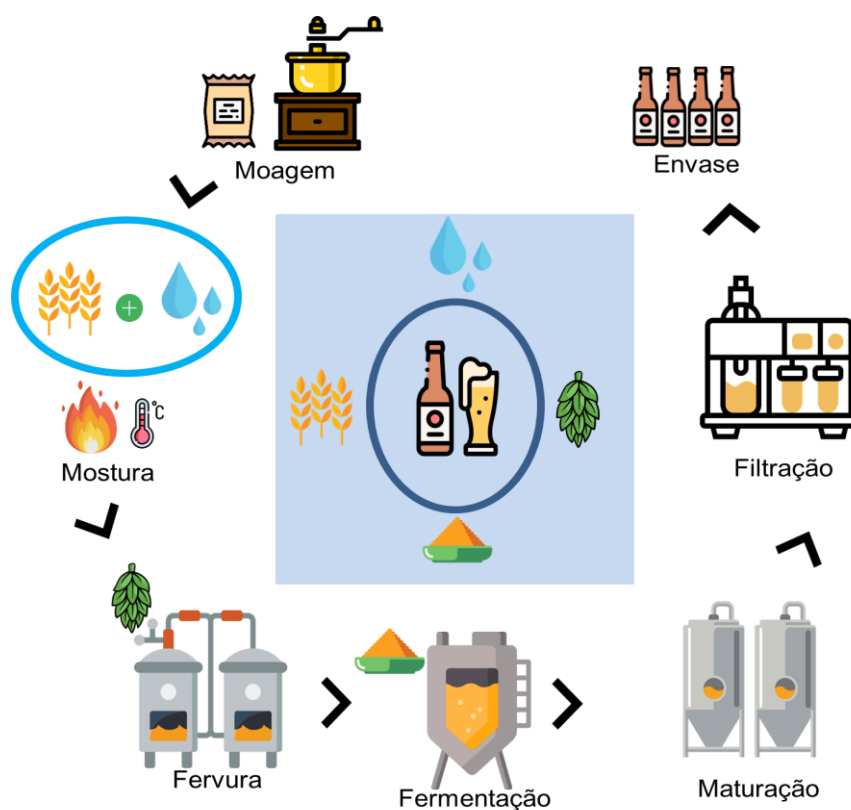


Figura 10. Etapas de produção da cerveja.

A **moagem** do malte e, se for o caso, demais cereais, consiste na separação da casca e do endosperma do grão, permitindo seu melhor contato com a água. Nesse processo, deseja-se que a casca permaneça inteira ou menos fragmentada o possível, evitando sabores relacionados a taninos (amargo/adstringente) e auxiliando na filtragem do mosto (Figura 11). Enquanto que para o endosperma do grão, objetiva-se que sofra uma moagem fina, mas sem chegar a pó, mantendo o diâmetro na ordem

de milímetros, o que auxilia na redução da turbidez do produto final (HARRISON; ALBANESE, 2017; KUNZE, 2004; PALMER, 2017).



Figura 11. Malte de cevada após o processo de moagem.

Na **mostura** (Figura 12), o malte moído é colocado em água e submetido a um aquecimento gradual de 40 a 78 °C por períodos de tempo determinados (técnica de rampas de temperatura). Nessa etapa, temperaturas entre 40 a 45 °C permitem a hidratação do grão e a ativação das enzimas (α -amilase e β -amilase) que convertem o amido do cereal em açúcares fermentáveis e solúveis em água. De forma contínua, o sistema é aquecido de 50 a 55 °C, permitindo a quebra das proteínas que envolvem o amido para que, posteriormente, entre 60 a 72 °C, ocorra a ação da α -amilase e β -amilase sobre o amido. Ao término do processo são aplicadas temperaturas entre 76 a 78 °C com o objetivo de inativar as enzimas. O tempo em que o sistema permanecerá em cada intervalo de temperatura dependerá da configuração da receita escolhida, sendo que cada cervejaria irá aprimorar esses valores de acordo com os resultados pretendidos (MEUSSDOERFFER, 2009; MORADO, 2017; PALMER, 2017).



Figura 12. Imagem representativa da etapa de mostura na produção artesanal. (NETO, 2018)

O amido dos cereais consiste em, aproximadamente, 75% de amilopectina e 25% de amilose (Figura 13). A amilopectina é um polímero ramificado, formado por α -D-glicopirranose, unidas por ligações glicosídicas α -1,4 (linear) e α -1,6 (ramificada), sendo que, em média, cada ramo tem 25 unidades de glicose. A amilose, por sua vez, é uma molécula linear composta por até 2000 unidades de glicose em ligações α -1,4 (HUGHES, 2001; JURKOVÁ et al., 2012; RODRÍGUEZ; AGUILAR; ALMEIDA E SILVA, 2018; VELOSO DE OLIVEIRA; SCHNEEDORF, 2017; WENWEN et al., 2019).

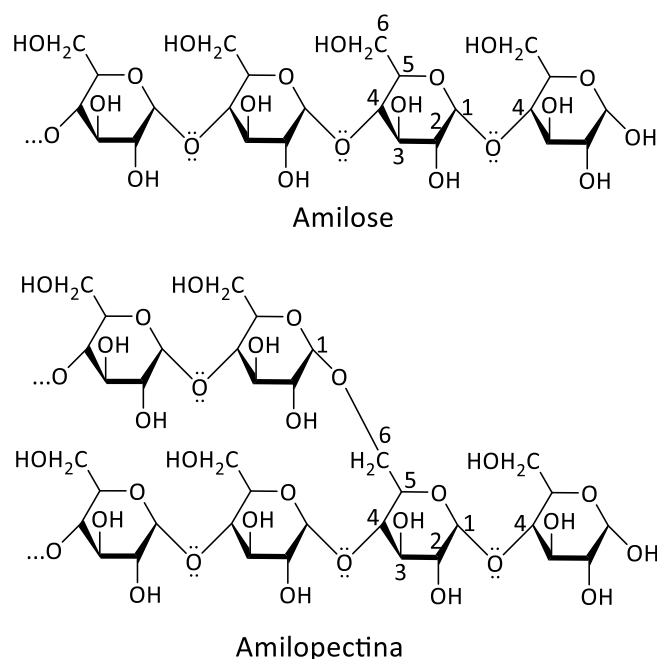


Figura 13. Estrutura química da Amilose e Amilopectina. (BARTH, 2013; HUGHES, 2001)

Esses compostos, mediante ação da α -amilase e β -amilase, sofrem hidrólise (Figura 14). A β -amilase ataca as extremidades redutoras externas da amilopectina e amilose, liberando maltose (duas unidades de glicose). A quebra de unidades de açúcares chega ao fim ao se deparar com uma ligação α -1,6. Em contrapartida, α -amilase, quebra as ligações α -1,4 que estão em pontos de ramificação, liberando dextrinas laterais e fornecendo substratos para a ação da β -amilase. A qualidade do malte está associada a taxa de conversão de amido em açúcares simples, denominado poder diastático, a qual está fortemente relacionada a concentração dessas enzimas no malte (EVANS et al., 1997; HUGHES, 2001; VELOSO DE OLIVEIRA; SCHNEEDORF, 2017; WENWEN et al., 2019). Em estudo recente realizado por Herrera-Gamboa e colaboradores (HERRERA-GAMBOA et al., 2018) foi verificado que o poder diastático também pode sofrer influência do pH. No estudo, foi observado que o emprego de pH entre 5 e 6 favoreceu o aumento nesta propriedade, resultando na maior quantidade de açúcares fermentáveis.

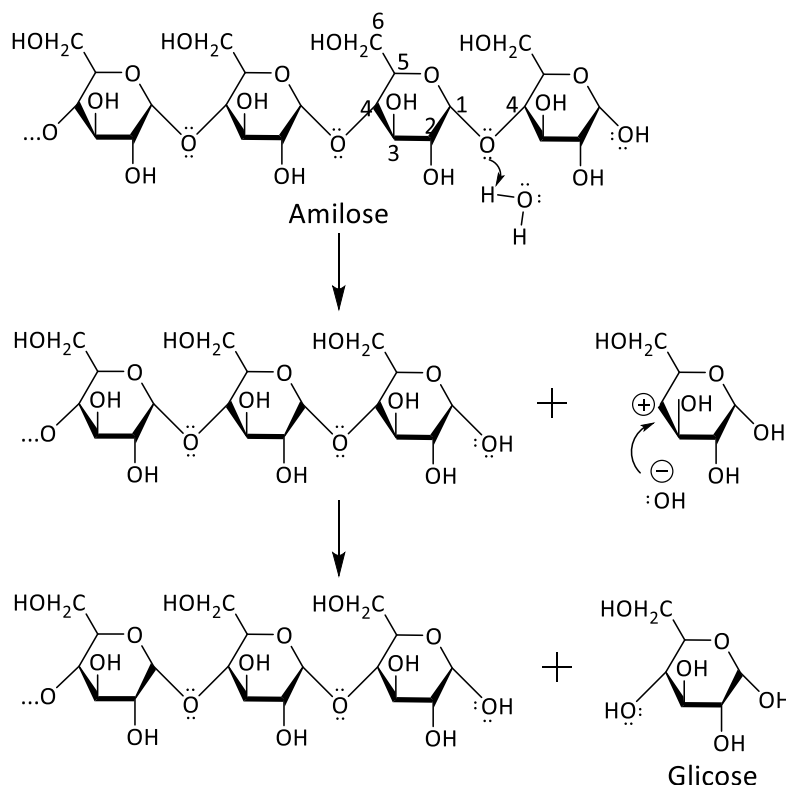


Figura 14. Hidrólise da amilose durante a mostura, resultando em açúcar fermentável e solúvel em água (glicose). (BARTH, 2013; HUGHES, 2001)

A mostura pode ter duração variada, dependendo do tipo de cerveja que se pretende obter e do equipamento utilizado, e resulta em um líquido açucarado, chamado de mosto, cuja densidade é superior ao da água. Ao final desta etapa, os sólidos não solúveis são removidos e, posteriormente, o mosto é aquecido entre 76 a 78 °C para inativação e degradação da maior parte das enzimas presentes nele, evitando sabores indesejáveis na bebida (PALMER, 2017).

Ressalta-se que, dependendo da forma de preparo e dos equipamentos utilizados, como etapa prévia à retirada dos sólidos não solúveis, pode ser realizada a filtração do mosto. Nesse processo, as cascas do malte atuam como elemento filtrante, auxiliando na retenção de sólidos.

A **fervura** é a etapa responsável pela esterilização do mosto filtrado, devido ao emprego de temperaturas próximas de 100 °C. Em geral, tem duração de uma hora, podendo ser superior em função da receita escolhida. Nesse estágio do processo é realizada a adição do lúpulo. A elevação na temperatura resulta na contração do anel dos α -ácidos, resultando na formação de isômeros *cis* e *trans*, transformando-os em iso- α -ácidos, responsáveis pelo amargor da bebida (BURNS et al., 2001; KARABÍN et

al., 2016; KUNZE, 2004). O amargor irá variar em função da massa de cones usados, concentração de α -ácidos na flor e do tempo em que ela permanecer em fervura. Em geral, os lúpulos de amargor são adicionados nos minutos iniciais, enquanto que os lúpulos de aroma são acrescentados nos minutos finais. Este procedimento é realizado com o intuito de evitar a perda dos compostos aromáticos e voláteis que irão compor o aroma e sabor da bebida (BARTH, 2013; KUNZE, 2004; PALMER, 2017). As principais estruturas de iso- α -ácidos encontradas na cerveja e seus principais substituintes estão expostos na Figura 15 e Tabela 3.

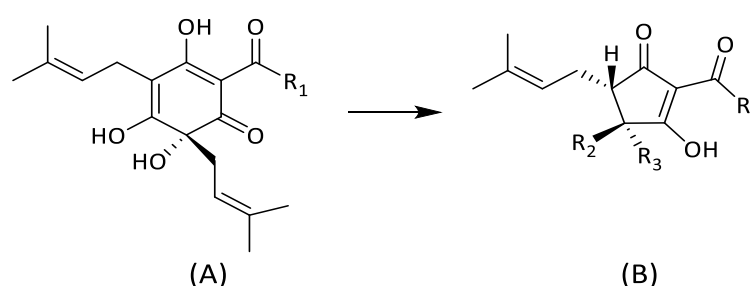
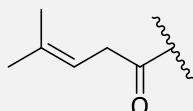


Figura 15. Estrutura dos principais α -ácidos presentes no lúpulo (A) e dos principais iso- α -ácidos formados durante a fervura (B). As estruturas dos substituintes R_1 , R_2 e R_3 são apresentadas na Tabela 3. (BAMFORTH et al., 2009; BARTH, 2013; BURNS et al., 2001; CABALLERO; BLANCO; PORRAS, 2012; HUGHES, 2001; KUNZE, 2004)

Tabela 3. Principais iso- α -ácidos encontrados na cerveja. (BAMFORTH et al., 2009; BARTH, 2013; BURNS et al., 2001; CABALLERO; BLANCO; PORRAS, 2012; HUGHES, 2001; KUNZE, 2004)

Iso- α -ácidos	R_1	R_2^*	R_3^*	Proporção típica na cerveja (%)
<i>trans</i> -Isocohumulona	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	OH	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$	7
<i>cis</i> -Isocohumulona	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$	OH	30
<i>trans</i> -Isohumulona	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	OH	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$	10
<i>cis</i> -Isohumulona	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$	OH	40
<i>trans</i> -Isoadhumulona	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	OH	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$	3
<i>cis</i> -Isoadhumulona	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$	OH	10

* $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$ é:



O lúpulo também é rico em óleos essenciais. Em estudo realizado por Praet e colaboradores (PRAET et al., 2015) foi observado que a fervura altera substancialmente o perfil aromático dos compostos oleosos presentes no lúpulo. No referido trabalho foi avaliado o impacto no perfil aromático de cervejas contendo óleo do lúpulo *Saaz* (empregado comumente em cervejas *Pilsen*), quando submetidas, ou não, ao processo de fervura. Para isso, as amostras foram preparadas através de microextração em fase sólida (MEFS), tendo a concentração dos compostos voláteis da amostra adsorvidas na fibra de sílica fundida recoberta por polímero, posicionada no espaço vazio acima da amostra (do inglês, *headspace*). Os compostos foram analisados por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG-EM). Os autores verificaram que antes da fervura houve predominância de aroma maltado e frutado e que, após fervura, o perfil sensorial mudou para notas florais, picantes, cítricas e lupuladas, características marcantes deste tipo de cerveja, indicando que a fervura também é importante para a composição de aromas característicos da bebida.

Na fervura também ocorrem reações que contribuem para a coloração da cerveja (Tabela 4), tais como as reações de Maillard e de oxidação de polifenóis. As reações de Maillard (Figura 16) são mais frequentes durante a fervura devido a elevada concentração de aminoácidos e carboidratos presentes no mosto. O aumento na temperatura propicia a reação entre esses compostos resultando em melanoidinas (cor), maltol (sabor de caramelo ou tostado) e funareol (sabor de morango). (BARTH, 2013; HUGHES, 2001; KUNZE, 2004)

Tabela 4. Contribuição dos ingredientes na coloração da cerveja. (BARTH, 2013; HUGHES, 2001)

Ingredientes	Compostos	Etapa	Tonalidade de Cor
Malte	Melanoidinas	Fervura	Amarelo, âmbar
Malte, lúpulo	Polifenóis oxidados	Fervura e pasteurização	Vermelho, marrom
Malte, levedura	Riboflavina	Mostura, fervura e fermentação	Amarelo

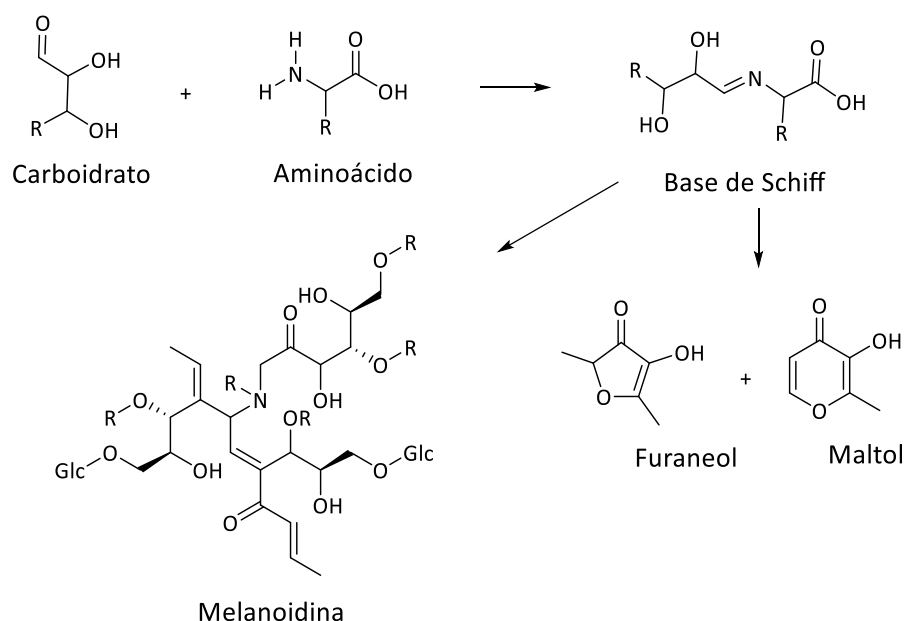


Figura 16. Mecanismo da reação de Maillard resultando na formação de melanoidinas, Furaneol e Maltol. Glc = Glicina e R = H, proteína, aminoácido ou Glicina. (HUGHES, 2001; KUNZE, 2004; MORALES-TOYO, 2018)

Ao término da fervura, o mosto é resfriado até atingir a temperatura de trabalho da levedura escolhida, para posterior inoculação e início da fermentação alcoólica.

Na **fermentação** (Figura 17), a glicose é oxidada formando piruvato que, por sua vez, sofre descarboxilação na forma de CO_2 , devido a ação da enzima piruvato descarboxilase. A presença da coenzima tiamina pirofosfato nesse sistema resulta na formação de acetaldeído, o qual sofre redução produzindo etanol. Além disso, a rota metabólica das leveduras resulta na formação de alguns intermediários glicolíticos. (BAI; ANDERSON; MOO-YOUNG, 2008; BANAT et al., 1998)

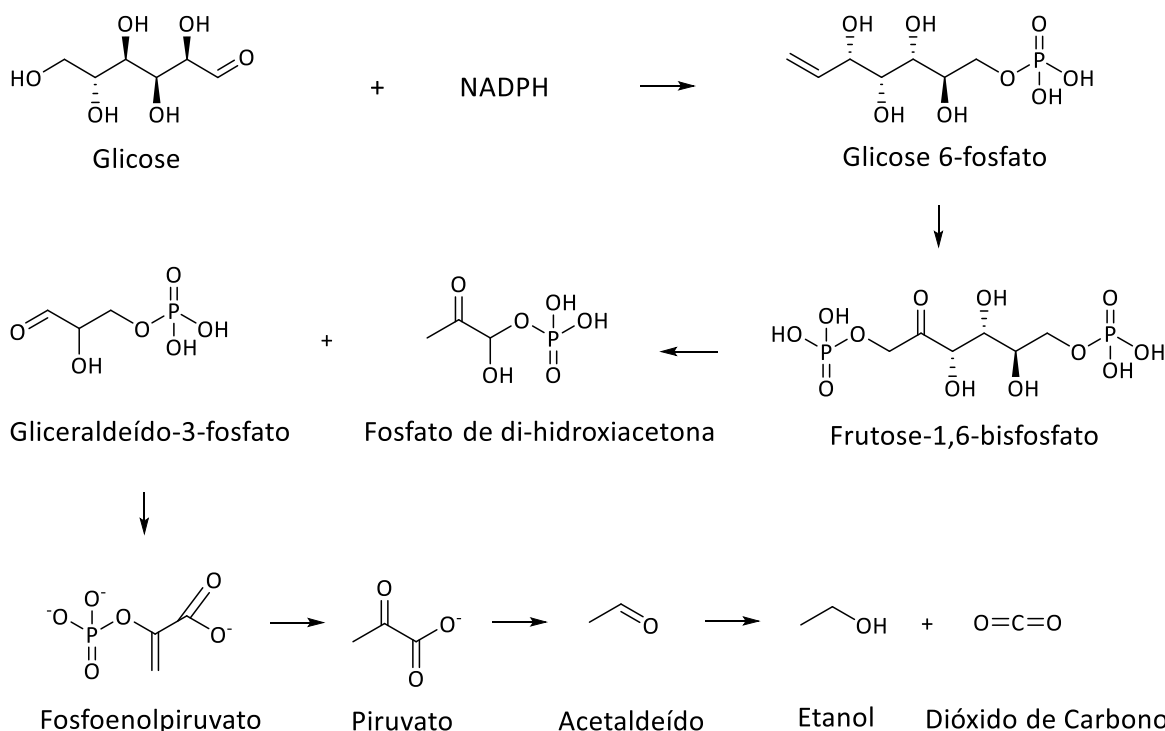


Figura 17. Mecanismo de conversão da glicose em etanol e dióxido de carbono pela ação das leveduras (BAI; ANDERSON; MOO-YOUNG, 2008; BANAT et al., 1998).

A fermentação é realizada em tanques fechados (fermentadores) e equipados com válvulas que permitem a saída do CO₂ produzido, mas impedindo a entrada de ar atmosférico, possibilitando o controle de pressão e impedindo a contaminação proveniente do contato com o ar ambiente. Esta etapa pode durar de 5 a 10 dias dependendo do estilo da cerveja, resultando em um líquido com densidade inferior à do mosto devido a presença de álcoois. Nas cervejas do estilo *Lambic* os fermentadores não impedem o contato do mosto com o ar atmosférico, haja vista a necessidade do contato do mosto com as leveduras presentes no ar, denominadas de selvagens. As leveduras selvagens podem conferir características sensoriais únicas à cerveja, visto que podem ser distintas dependendo de cada região geográfica e ambiental (BAMFORTH et al., 2009; BARTH, 2013; DOS SANTOS BERNARDI et al., 2019; HUGHES, 2001; KUNZE, 2004).

Durante a fermentação do mosto também são formados outros compostos que podem conferir aromas e sabores agradáveis e desejáveis à cerveja, conforme apresentado na Tabela 5. Entretanto, alguns compostos podem incorporar características indesejáveis à bebida (Tabela 6), eles são denominados de *off flavours* e podem ser formados devido a contaminação por microrganismos, pela aplicação de temperaturas acima da recomendada ou até mesmo pela característica da levedura

usada (BETTENHAUSEN et al., 2018; DESOBGO; STAFFORD; METCALFE, 2015, 2017; HUGHES, 2001; KISHIMOTO et al., 2018; SPARROW, 2005). A quantificação de *off flavour* em cervejas pode ser realizada com boa sensibilidade através das técnicas de MEFS-*Headspace*/CG-EM e cromatografia gasosa acoplada à detecção de captura de elétrons (CG-DCE), conforme abordado na pesquisa de Da Silva e colaboradores (DA SILVA et al., 2015.)

Cabe destacar que os *off flavours* não são formados apenas durante a fermentação. A formação do dimetilsulfureto (DMS), por exemplo, ocorre durante a fervura. Com o aquecimento, a S-metil-metionina presente no malte, em especial os claros (trigo, centeio e sorgo) são convertidos em DMS (Tabela 6), composto com características indesejadas em vários estilos de cerveja.

Tabela 5. Compostos químicos encontrados na cerveja e suas contribuições no aroma e sabor da bebida. (BARTH, 2013; CALLEMIEN; COLLIN, 2010; ČULÍK et al., 2013; GONZALEZ VIEJO et al., 2019; GUERRINI et al., 2018; HIRALAL; OLANIRAN; PILLAY, 2014; HUGHES, 2001; KISHIMOTO et al., 2018; SPARROW, 2005)

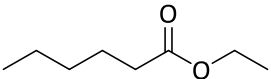
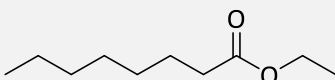
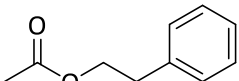
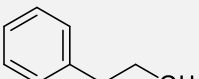
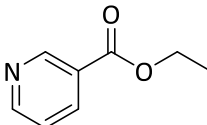
Substância	Concentração típica na cerveja (mg L ⁻¹)	Limiar do sabor (mg L ⁻¹)	Sabores e aromas (On Flavour)
 Hexanoato de Etila	0,1 a 0,5	0,2	Maçã, frutado, doce
 Octanoato de Etila	0,1 a 1,5	0,5	Maçã, frutas tropicais, doce
 Acetato de 2-feniletila	0,05 a 2,0	3,0	Rosas, mel, maçã, doce
 2-Feniletanol	8 a 35	125	Rosas, amargos, perfumado
 Nicotinato de etila	1 a 1,5	2	Perfumado com notas florais

Tabela 5. Continuação.

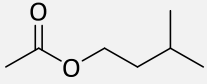
Substância	Concentração típica na cerveja (mg L ⁻¹)	Limiar do sabor (mg L ⁻¹)	Sabores e aromas (On Flavour)
 Acetato de isoamila	0,5 a 5,0	1	Banana

Tabela 6. Compostos químicos encontrados na cerveja e *Off Flavour* causado na bebida. (BARTH, 2013; CABALLERO; BLANCO; PORRAS, 2012; CALLEMIEN; COLLIN, 2010; DESOBGO; STAFFORD; METCALFE, 2015, 2017; DROST et al., 1990; GUERRINI et al., 2018; HUGHES, 2001; LENTZ, 2018; ZHU; CUI, 2013)

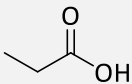
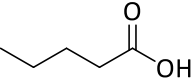
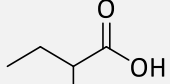
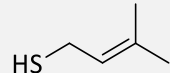
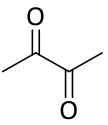
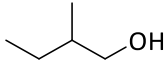
Substância	Concentração típica na cerveja (mg L ⁻¹)	Limiar do sabor (mg L ⁻¹)	Off Flavour
 Ácido acético	30 a 200	175	Ácido, Vinagre
 Ácido propanóico	1 a 5	150	Ácido, Vinagre e leite
 Ácido pentanóico	0,03 a 0,1	8	Suor, odor do corpo
 Ácido 2-Metilbutanóico	0,1 a 0,5	2	Queijo, lúpulo velho, suor
 Ácido Sulfídrico	-	-	Sulfetos, ovos podres
 3-Metil-2-buten-1-tiol	0,001 a 0,1	0,01	Gambá, alho-poró
 Butan-2,3-diona	0,01 a 0,4	0,07 a 0,15	Amenteigado, pipoca de cinema

Tabela 6. Continuação

Substância	Concentração típica na cerveja (mg L ⁻¹)	Limiar do sabor (mg L ⁻¹)	Off Flavour
$\text{H}_3\text{C}-\text{OH}$ Metanol	0,5 a 3,0	10.000	Alcoólico, solvente
 2-Metil butanol	8 a 30	65	Alcoólico, vinosa
 Dimetilsulfureto	-	-	Legumes cozidos: milho em conserva ou repolho

A **maturação** consiste em um método eficaz de remoção de *off flavours*. Nele, a cerveja verde (líquido resultante da fermentação) pode ser transferida do fermentador, o qual pode apresentar grande quantidade de sedimentos sólidos (leveduras mortas/inativas, lúpulo e etc.), para o maturador. O maturador é recipiente ou reservatório e que, normalmente, é semelhante ao fermentador. A cerveja pode ser mantida no maturador por horas, dias ou até meses, variando de acordo com o estilo desejado. Este procedimento permite que as leveduras que ainda estão ativas no líquido continuem a produzir CO₂, eliminando compostos voláteis indesejáveis (AMBRA; PASTORE; LUCCHETTI, 2021; DE KEUKELEIRE, 2000; KUNZE, 2004; LERMUSIEAU et al., 1999).

Na maturação, as leveduras também catalisam a conversão de *off flavour* em substâncias com sabores neutros. Um *off flavour* comum em cervejas verdes é o diacetil (butan-2,3-diona), sendo substância indesejada na maioria dos estilos de cerveja, por exemplo as *Pilsener*. Este composto é formado durante a fermentação da bebida, a partir da reação enzimática do piruvato resultando em ácido α -acético. Neste processo, o ácido α -acético sofre oxidação espontânea para diacetil e, posteriormente, em acetoína (3-hidroxibutan-2-ona). Findada a glicólise durante a fermentação, as leveduras atuam sobre o diacetil e acetoína, promovendo reações que irão converter esses compostos em butano-2,3-diol e pentano-2,3-diol, substâncias que não interferem no sabor e aroma da cerveja (BARTH, 2013; DE KEUKELEIRE, 2000; DROST et al., 1990; GUERRINI et al., 2018; LERMUSIEAU et al., 1999; PALMER, 2017; SPARROW, 2005; ZHU; CUI, 2013). O período de maturação pode ser reduzido com a oxigenação do mosto e aplicação de temperaturas superiores a da fermentação

(J et al., 1995) ou com a adição de enzima α -acetolactato descarboxilase (GODTFREDSEN; OTTESEN, 1982). Esta enzima atua acelerando o processo de formação e conversão do diacetil em butano-2,3-diol e pentano-2,3-diol, podendo reduzir o tempo de maturação para até 24 horas. O mecanismo de formação e conversão do diacetil durante a maturação é apresentado na Figura 18.

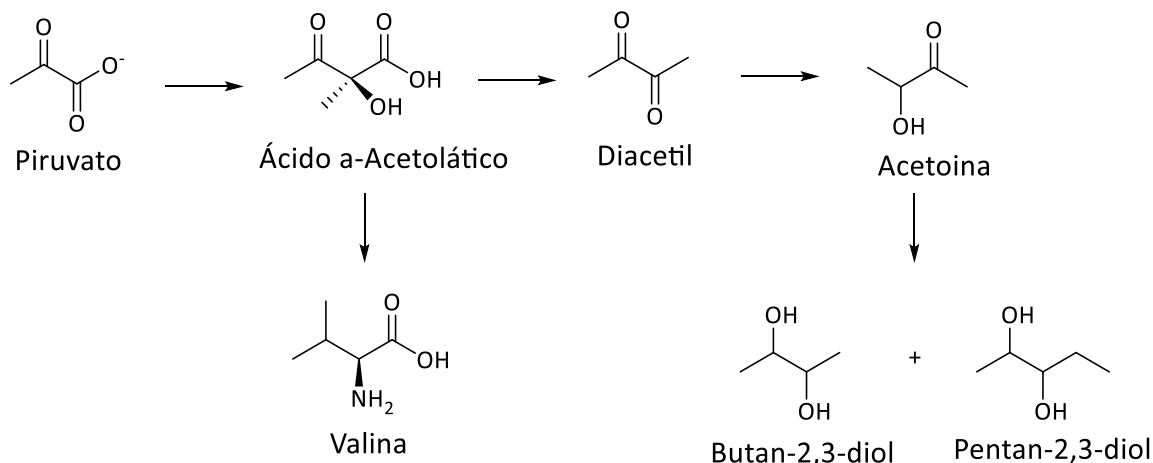


Figura 18. Mecanismo de formação e conversão do diacetil durante a maturação (HUGHES, 2001; MORALES-TOYO, 2018).

Durante a maturação também pode ser realizada a adição de lúpulo com o objetivo de intensificar aromas e dar frescor à cerveja. Em se tratando de uma adição de lúpulo em baixas temperaturas, essa técnica recebe o nome de *dry hopping* (MORADO, 2017).

A **filtração** tem como objetivo principal a eliminação das leveduras que ainda restam no líquido após a maturação, resultando em uma bebida mais brilhante e transparente. Em alguns casos a filtração pode ser precedida da centrifugação, aumentando a eficiência do processo. Os principais elementos filtrantes utilizados são compostos de diatomita ou de perlita. Cabe destacar que esse processo pode remover substâncias que conferem corpo à bebida, por isso algumas cervejarias optam por não utilizar essa técnica (DOS SANTOS BERNARDI et al., 2019; MORADO, 2017).

O **envase** é a última etapa da produção de uma cerveja, geralmente feita em recipientes metálicos (latas de alumínio ou barris de aço inox) ou de vidro (vidro transparente, verde, âmbar e etc). No envase também é realizada a carbonatação da cerveja, processo que permite a adição ou geração de a adição do gás carbônico característico da bebida. A carbonatação pode ocorrer de duas maneiras, a primeira é

aquela em que o CO₂ é adicionado de maneira artificial à bebida por injeção, chamada de carbonatação forçada, enquanto a carbonatação natural, ou re-fermentação, consiste na adição de uma quantidade controlada de açúcares na bebida, no frasco de envase devidamente lacrado, iniciando nova fermentação, assim o CO₂ formado irá dissolver no líquido, carbonatando-o (DE KEUKELEIRE, 2000; HARRISON; ALBANESE, 2017; KUNZE, 2004; MORALES-TOYO, 2018; PALMER, 2017).

A escolha do recipiente de envase influencia diretamente na conservação da bebida, conforme verificado no artigo de Ghasemi-Varnamkhasti e colaboradores (GHASEMI-VARNAMKHASTI et al., 2012). No estudo, os autores analisaram o envelhecimento da cerveja com e sem álcool envasadas em latas de alumínio e garrafas de vidro. Os pesquisadores submeteram a bebida a degradação por até 20 dias e o envelhecimento foi monitorado por voltametria cíclica. Como resultado, foi verificado que o envelhecimento provoca a oxidação da bebida, reduzindo a concentração de flavonoides presentes nela e que a melhor conservação da bebida ocorre quando há a presença de álcool e o envase da bebida é feito em latas, impedido a ação da luz no envelhecimento da cerveja.

O processo de produção da “cerveja” e do *Chopp* é o mesmo, entretanto, segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2009), ao sofrer pasteurização a bebida receberá o nome de “Cerveja”, caso não ocorra, o produto receberá a denominação de “*Chopp*”. A pasteurização, consiste na esterilização do líquido pela ação do calor e rápido resfriamento, resultando em um produto com maior durabilidade.

1.5. Atividade biológica de compostos presentes na cerveja

Os ingredientes utilizados na produção da cerveja contribuem para a formação de uma bebida rica em proteínas, vitaminas do complexo B, minerais, fibras alimentares, compostos fenólicos, e etanol. As concentrações típicas de diversas substâncias presentes na cerveja são apresentadas na Tabela 7, sendo que suas estruturas químicas são apresentadas na Figura 19. A presença desses compostos confere a cerveja atividade antioxidante similar à do vinho, tendo como vantagem a maior concentração de vitaminas e proteínas, associada a um menor teor alcoólico (GERHÄUSER, 2005; KAPLAN; PALMER; DENKE, 2000). Estudos presentes na literatura científica (DOLL et al., 1994; KAPLAN; PALMER; DENKE, 2000;

SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN; REZAEI, 2012; THUN et al., 1997). indicam que a mortalidade de pessoas que ingerem cerca de 300 mL de cerveja por dia ($10 \text{ a } 15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ álcool) é menor do que aqueles que não consomem álcool ou que excedem essa quantidade. A atividade terapêutica de alguns compostos presentes na cerveja, quando associadas a um consumo moderado, é apresentada na Tabela 8.

Tabela 7. Concentração aproximada de alguns compostos encontrados na cerveja. (BAMFORTH, 2004; GERHÄUSER, 2005; KAPLAN; PALMER; DENKE, 2000; LIU; MA; CHEN, 2013; PREEDY, 2009; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN; REZAEI, 2012)

Compostos	Concentração ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
Álcool	~390000
Aminoácidos	5 a 100
Alfa ácidos	~1,7
Carboidratos totais	~28000
Chalconas	
Xantohumol	0,002 a 1,2
Fibras	400 a 6200
Flavonoides	
(+)-Catequina	>5,4
(-)-Epicatequina	>1,1
Quercetina	>10
Canferol	>16,4
Isoxantohumol	0,04 a 3,44
8-prenilnaringenina	0,0001 a 0,24
6-prenilnaringenina	0,0001 a 0,56
Proantocianidina	21 a 25
Iso-alfa-ácidos	0,6 a 100
Minerais	
Ácido fosfórico	90 a 400
Potássio	330 a 1100
Ferro	0,1 a 0,5
Cobre	0,3 a 0,8
Magnésio	60 a 200
Sódio	40 a 230
Selênio	~18
Proteínas	2000 a 4800
Vitaminas do complexo B	
Tiamina (B1)	0,01 a 0,15
Riboflavina (B2)	0,04 a 2
Niacina (B3)	0,3 a 5
Ácido pantotênico (B5)	0,04 a 2
Piridoxina (B6)	0,07 a 1,7
Biotina (B8)	<0,015
Ácido fólico (B9)	0,04 a 0,6
Cianocobalamina (B12)	<0,03

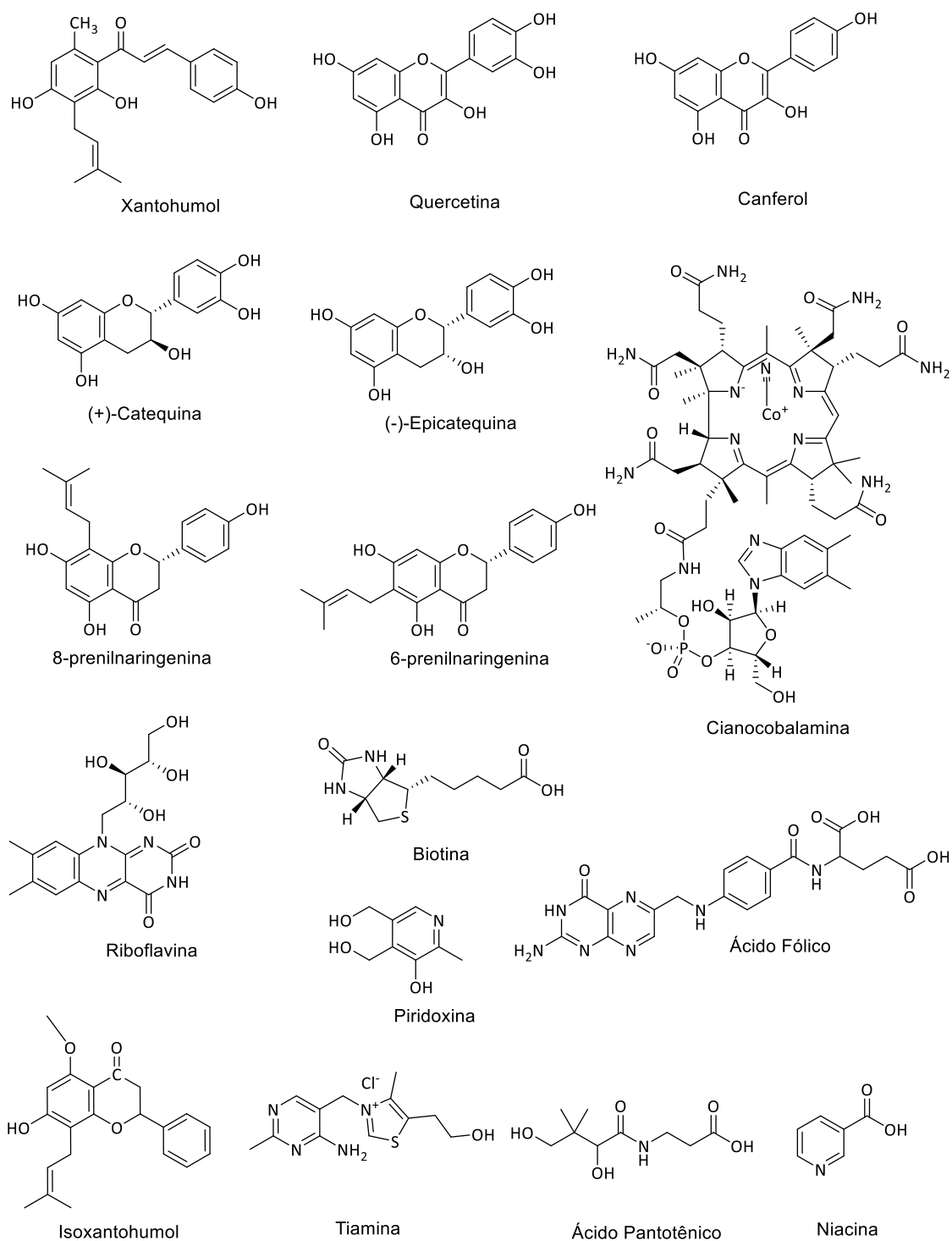


Figura 19. Estruturas químicas de alguns compostos bioativos encontrados nas cervejas, conforme concentrações apresentadas na Tabela 8. (BAMFORTH, 2004; GERHÄUSER, 2005; KAPLAN; PALMER; DENKE, 2000; LIU; MA; CHEN, 2013; PREEDY, 2009; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN; REZAEI, 2012)

Os compostos apresentados na Tabela 7, cujas estruturas são apresentadas na Figura 19, são comumente encontrados em cervejas puro malte. Entretanto, podem ser utilizados vários adjuntos com intuito de incrementar a concentração de diversos compostos, melhorando as atividades biológicas da bebida, conforme exposto na

Tabela 8. Rodrigues e colaboradores (RODRIGUES et al., 2016) realizaram a produção de cervejas usando o *kefir* como substituto da levedura cervejeira, como resultado foi observado aumento no efeito anti-inflamatório e antiulcerogênico da bebida, segundo os autores, atribuído ao efeito sinérgico dos probióticos do *kefir* com os polifenóis do malte. Cho e colaboradores (CHO et al., 2018) produziram cerveja com a adição de caqui, resultando em uma bebida com maior concentração de Mg, K, Ca e flavonoides, apresentando maior atividade antioxidante. Um incremento na atividade antioxidante também foi observado por Ulloa e colaboradores (ULLOA et al., 2017) derivado da adição de própolis durante a produção da cerveja, resultando numa maior concentração de flavonoides frente às cervejas puro malte. A utilização de cereais não maltados como adjuntos pode reduzir os benefícios à saúde. Em estudo realizado por Fumi e colaboradores (FUMI et al., 2011) foi verificado que a substituição do malte de cevada por milho reduziu a concentração de polifenóis na bebida. No estudo foram produzidas cervejas puro malte e com milho (91% milho + 9% malte de cevada m/m), resultando numa alteração da concentração de polifenóis na bebida de 336,5 mg·L⁻¹ para 280 mg·L⁻¹.

Tabela 8. Atividade terapêutica de alguns compostos presentes na cerveja.

Compostos	Impactos medicinais
Etanol	Aumento do colesterol HDL, alívio do estresse, redução de triglicerídeos, proteção contra o envelhecimento oxidativo resultante do estresse, relaxação e combate à <i>helicobacter pylori</i> que infecta a mucosa do estômago, redução do risco de demência e melhora na biodisponibilidade dos flavonoides (INNÉS, 1998; KAPLAN; PALMER; DENKE, 2000; KONDO, 2008; LACOSTE; HUNG; LAM, 2001; LEWANDOWSKA et al., 2013; MUKAMAL et al., 2003; MURRAY et al., 2002; SABIA et al., 2018; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN; REZAEI, 2012).
Flavonoides	Efeito antioxidante, anti-inflamatório, prevenção modificações intracelulares por bactérias, melhora das funções cognitivas em idosos, alívio dos sintomas da pré-menopausa (ondas de calor), alívio do estresse, prevenção da diabetes, redução do metabolismo de células cancerígenas, inibição da osteoporose e auxilia no combate a úlceras (AYABE et al., 2018; COLGATE et al., 2007; DAS et al., 2016; HENDERSON et al., 2000; KONDO, 2008; KUNZE, 2004; LIU; MA; CHEN, 2013; MATEO-GALLEGO et al., 2019; MERINAS-AMO et al., 2016; MIZUNO, 2013; MORAND et al., 1998; NOZAWA et al., 2004; RODRIGUES et al., 2016; SPRENG; HOFMANN, 2018; ŠTULÍKOVÁ et al., 2018; ULLOA et al., 2017; YILMAZER; STEVENS; BUHLER, 2001; YUAN et al., 2014).
Fibras	Melhora o trânsito intestinal (SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN; REZAEI, 2012).
Xanthohumol	Inibição de efeitos citopáticos induzidos pelo HIV-1 e de sua replicação em células mononucleares do sangue periférico, ação preventiva contra a proliferação de células de câncer (mama, cólon e ovário) e proteção do DNA contra a genotoxicidade derivada do envelhecimento (COLGATE et al., 2007; MERINAS-AMO et al., 2016; WANG et al., 2004; YUAN et al., 2014).
Iso-alfa-ácidos	Ação antimicrobiana para bactérias gram-positivas, inibição da osteoporose e prevenção contra o Alzheimer (BLANCO; ROJAS; NIMUBONA, 2007; CABALLERO; BLANCO; PORRAS, 2012; HENDERSON et al., 2000; SIMPSON; FERNANDEZ, 1994; SIMPSON; SMITH, 1992).

Tabela 8. Continuação.

Compostos	Impactos medicinais
Vitaminas do complexo B	Ação antifadiga, aumenta a eficácia de tratamentos contra infecções e diabetes, atua no metabolismo dos carboidratos e auxilia no combate a depressão (AYABE et al., 2018; CHEN et al., 2017; ELBARBARY et al., 2019; MOORE et al., 2019; NOZAWA et al., 2004; SUN et al., 2017).
Aminoácidos	Reparação muscular, produção de energia e proteínas, melhora na memória, auxilia na resistência física, atua na síntese de colágeno e elastina, envolvidos na resposta imunológica do nosso corpo, podem estar associados a bons níveis de serotonina, contribuindo contra a depressão (BAMFORTH, 2004; KONDO, 2008).
Carboidratos	Principal fonte de energia utilizada pelo nosso corpo. Uma alimentação deficiente em carboidratos pode causar fraqueza, irritabilidade e depressão (BAMFORTH, 2004; KONDO, 2008).
Minerais	Composição dos ossos (Ca e Si), bom funcionamento do coração (K e Ca) e potencialização da insulina (Cr e Ca) (MORADO, 2017).

1.6. Técnicas analíticas empregadas no estudo

1.6.1. Infravermelho (IV)

A radiação na região do infravermelho foi descoberta por William Herschel em 1800, enquanto investigava a cor da radiação solar que produz calor. Herschel empregou um prisma de vidro para decompor a luz branca do sol em seus comprimentos de onda visíveis e, com o auxílio de um termômetro com um bulbo enegrecido, verificou a temperatura produzida por cada cor. A mais intensa variação de temperatura foi observada quando o termômetro foi colocado logo acima da região vermelha do espectro, denominada infravermelho (HERSCHEL, 1800; LIMA et al., 2009).

A espectroscopia no infravermelho trata das variações de energia molecular associadas às transições vibracionais devido à absorção ou emissão de um fóton, que não é suficientemente energético para causar uma transição eletrônica. A energia de um fóton (E) é dado pela Equação 1:

$$E = h \cdot \nu \quad (1)$$

onde h é a constante de Planck ($6,626 \times 10^{-34}$ J s) e ν é a frequência de transição. Como a radiação eletromagnética pode ser tratada como uma onda, a energia envolvida neste tipo de transição pode ser também expressa pela Equação 2:

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (2)$$

onde c é a velocidade da luz no vácuo ($2,998 \times 10^8$ m s⁻¹).

A espectroscopia no infravermelho emprega radiação na região do espectro eletromagnético adjacente aos comprimentos de onda superiores da região visível, compreendendo a radiação com números de onda no intervalo de, aproximadamente, 12800 a 10 cm⁻¹. Do ponto de vista de aplicação, devido sua ampla faixa é comumente dividido em três regiões conforme exposto na Tabela 9 (CROUCH, 1992; PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

Tabela 9. Regiões espectrais do infravermelho (CROUCH, 1992).

Região	Comprimento de onda (μm)	Número de onda (cm ⁻¹)
Próximo	0,78 a 2,5	12800 a 4000
Médio	2,5 a 50	4000 a 200
Distante	50 a 1000	200 a 10

O espectro infravermelho específico das moléculas e as informações relacionadas às bandas espectrais de determinados grupos químicos são os fatores que dominam a determinação de diversos constituintes orgânicos, como proteínas e polissacarídeos de matrizes complexas (KAROUI, 2018; MANLEY; BAETEN, 2018; SCHIEBER, 2018). Embora a radiação do infravermelho, por possuir maior comprimento de onda, possui menor energia, esta é suficiente para provocar alterações vibracionais ou rotacionais das moléculas (SILVA et al., 2021).

As vibrações moleculares podem ser classificadas em dois tipos: vibrações de deformação axial (*stretching*) e de deformação angular (*bending*), conforme mostrado na Figura 20. As deformações axiais, ou estiramento, são oscilações radiais das distâncias entre os núcleos enquanto as deformações angulares envolvem mudanças dos ângulos entre as ligações ou, como no modo de deformação assimétrica fora do plano, alterações do ângulo entre o plano que contém as ligações e um plano de referência (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

Deformações Axiais



Deformações Angulares

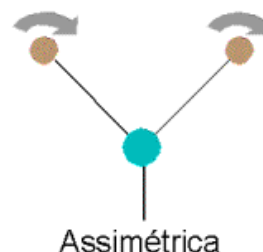
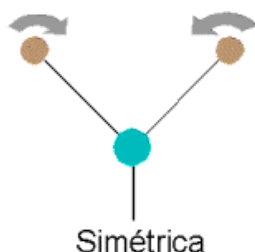


Figura 20. Modos de vibração molecular, sendo que os sinais X e • indicam movimentos para dentro e para fora do plano do desenho, respectivamente (UNESP, 2021).

Em moléculas, os elétrons sofrem efeitos de átomos ou grupos vizinhos, influenciando o estiramento, o comprimento da ligação, o ângulo de ligação e, portanto, a frequência de vibração das ligações químicas. As diferenças específicas geradas por estas interações possibilitam que cada substância tenha um espectro característico.

De forma geral, as medidas feitas na região do infravermelho IVP ou IVM possibilitam o estudo de amostras que podem se encontrar na fase sólida, líquida ou gasosa. Na grande maioria das vezes, não requer grande preparo da amostra e dependendo da técnica utilizada para a análise esta pode ser não destrutiva e relativamente rápida (SILVA et al., 2021).

Na espectroscopia por infravermelho, as absorções de cada tipo de ligação (N—H, C—H, O—H, C—X, C=O, C—O, C—C, etc.) são, em geral, encontradas apenas em certas regiões, na qual uma pequena faixa de absorção pode ser definida para cada tipo de ligação. Fora dessa faixa, as absorções normalmente se devem a algum outro tipo de ligação. A Figura 21 ilustra esquematicamente como as ligações estão distribuídas no infravermelho (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

Frequência (cm ⁻¹)						
4000	2500	2000	1800	1650	1550	650
O-H	C-H	C≡C	MUITO POUCAS FAIXAS	C=O	C=N	C-C I
		C≡N				C-O
N-H		X=C=Y (C,O,N,S)			C=C	C-N
						C-C
					N=O N=O	

Figura 21. Regiões aproximadas em que vários tipos comuns de ligação absorvem (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

As regiões entre 1151-1155 cm⁻¹, 1079-1085 cm⁻¹ e 1045-1043 cm⁻¹, em geral, são empregadas na avaliação do perfil das cervejas, refletindo contribuições dos carboidratos empregados na produção da bebida. O emprego do infravermelho pode auxiliar na identificação de grupos químicos dos componentes de um sistema, combinada com outras técnicas analíticas tais como o RMN ¹H e a espectrometria de massas (DUARTE et al., 2004).

1.6.2. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)

A ressonância magnética nuclear (RMN) consiste em um método espectroscópico que oferece informações sobre a interação da radiação eletromagnética com a matéria. Assim, a RMN consiste na imersão da amostra de interesse em um campo magnético (B_0) intenso e posterior aplicação de pulsos de radiofrequência. Nesse processo, alguns núcleos irão absorver energia e outros não, dependendo das estruturas magnéticas de cada elemento.

Os núcleos que absorvem energia são aqueles que possuem número atômico ímpar ou massa ímpar, ou até mesmo ambos, tendo um momento angular de spin e um momento magnético (μ). Os estados de spin não têm a mesma energia em um campo magnético aplicado, visto que o núcleo é uma partícula carregada. Qualquer carga em movimento gera um campo magnético. Por consequência, o núcleo tem um momento magnético gerado por sua carga e seu spin. Um núcleo de hidrogênio, por exemplo, pode apresentar um *spin* no sentido horário ($+\frac{1}{2}$) ou anti-horário ($-\frac{1}{2}$) e os momentos nucleares (μ), nos dois casos, apontam em direções opostas (Figura 22).

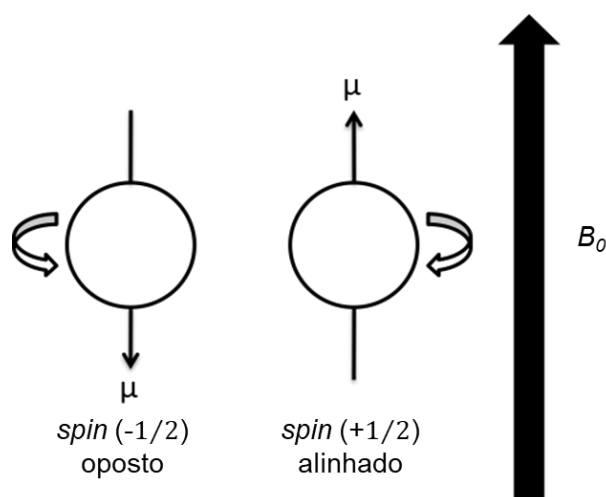


Figura 22. Núcleo de hidrogênio, que pode apresentar *spin* no sentido horário ($+\frac{1}{2}$) ou anti-horário ($-\frac{1}{2}$) e os momentos nucleares (μ), nos dois casos, apontam em direções opostas. Adaptado (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

O número de estados de *spin* permitidos que podem ser adotados é quantizado e determinado por seu número quântico de *spin* nuclear (I), seguindo a Equação 3.

$$2I + 1 \quad (3)$$

Os núcleos, normalmente, se encontram em estados degenerados de energia, ou seja, sem a incidência de um campo magnético (B_0), apresentando uma distribuição aleatória dos *spins*. Quando um campo magnético é aplicado, os núcleos alinham-se paralelamente a B_0 , adotando um número limitado de orientações (Figura 23), fenômeno denominado de precessão. Os prótons que se alinham paralelamente a favor do campo estão no estado de *spin* α , de menor energia, em contraposição, os que se alinham contra o campo, estão em estados de *spin* β , de maior energia, visto que é necessária maior quantidade de energia para alinhar-se contra o campo do que a favor dele. Por isso, um maior número de núcleos encontra-se no estado de *spin* α do que no estado de *spin* β (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

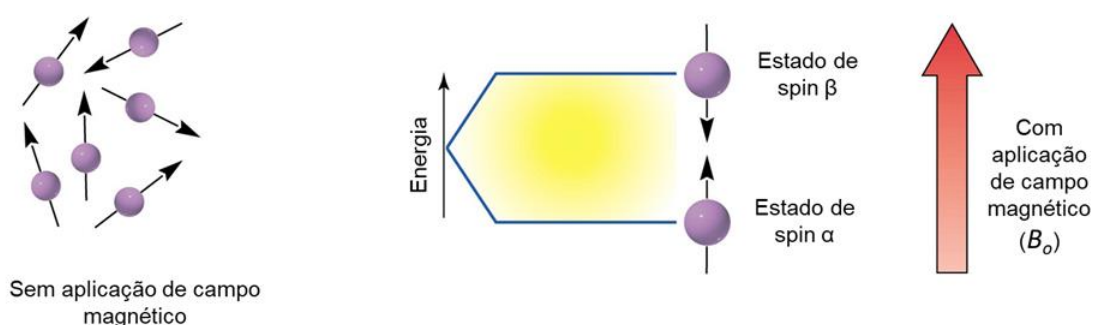


Figura 23. Processo de ressonância magnética nuclear: interação do núcleo mediante aplicação de um campo magnético (B_0).

Mediante a presença do campo magnético, o núcleo começa a mudar de direção sobre o próprio eixo de rotação determinada frequência angular (ω). A frequência com que um próton muda de direção é diretamente proporcional à intensidade do campo magnético aplicado (Figura 24). Após a interrupção do campo magnético, os núcleos excitados retornam ao seu estado original de *spin*, denominado processo de relaxação. O tempo necessário para que ocorra esse processo é chamado de tempo de relaxação. O fenômeno da RMN será percebido apenas por núcleos ativos magneticamente, ou seja, aqueles que apresentam momento de *spin* não nulo (*spin* $I \neq 0$), ao serem submetidos a um campo magnético (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

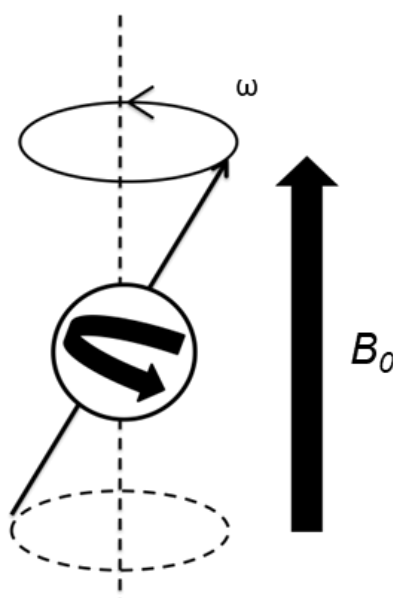


Figura 24. Precessão de um núcleo girando, resultado da presença de um campo magnético aplicado (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

Os sinais obtidos pela RMN dependem da configuração eletrônica de cada núcleo, resultando em informações importantes sobre a estrutura da matéria.

Diferentes núcleos podem ser estudados pela RMN, tais como ^1H , ^2H , ^{13}C , ^{14}N , ^{17}O e ^{19}F . Em geral, a técnica de RMN utilizando o núcleo de hidrogênio (^1H) é uma das análises mais utilizadas e seu espectro fornece múltiplas informações (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

A técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) permite obter informações acerca do número de hidrogênios presentes na molécula, por meio da integração, assim como diferenciar seu ambiente químico, com consequente identificação dos prótons não equivalentes. Além disso, a técnica possibilita conhecer a influência de um próton sobre outro por meio da constante de acoplamento (J) que, com a variação de seu valor, informa sobre o distanciamento espacial entre um próton e seus vizinhos próximos. Na avaliação da composição da cerveja, em geral, a região dos aromáticos e dos alifáticos de um espectro de RMN ^1H fornece informações relevantes sobre os compostos químicos presentes na amostra (DUARTE et al., 2003; WU et al., 2017).

1.6.3. Espectrometria de massas (EM)

A espectrometria de massa é uma técnica analítica utilizada para detectar compostos químicos de uma amostra, por meio da medição da sua massa e da caracterização de sua estrutura química.

A técnica consiste em fornecer energia à amostra, provocando sua ionização. O espectrômetro de massas é constituído por três componentes básicos: uma fonte de íons, o analisador de massa e o detector (Figura 25). Na fonte de íons é dada energia à amostra, na presença de um agente ionizante, possibilitando sua conversão em íons (cátions e ânions) a partir de moléculas neutras. Após sua geração, os íons, são imediatamente acelerados em direção ao analisador de massa, cuja função é separar tais íons de acordo com a sua relação massa/carga (m/z). Ao final do processo o detector recebe os íons selecionados pelo analisador e transforma a corrente de íons em sinais elétricos, os quais são processados e transformados em um espectro de massas, representado graficamente por abundância relativa versus razão m/z dos compostos identificados, no qual o eixo x exibe a razão m/z dos íons detectados e o eixo y, sua intensidade relativa ou absoluta (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

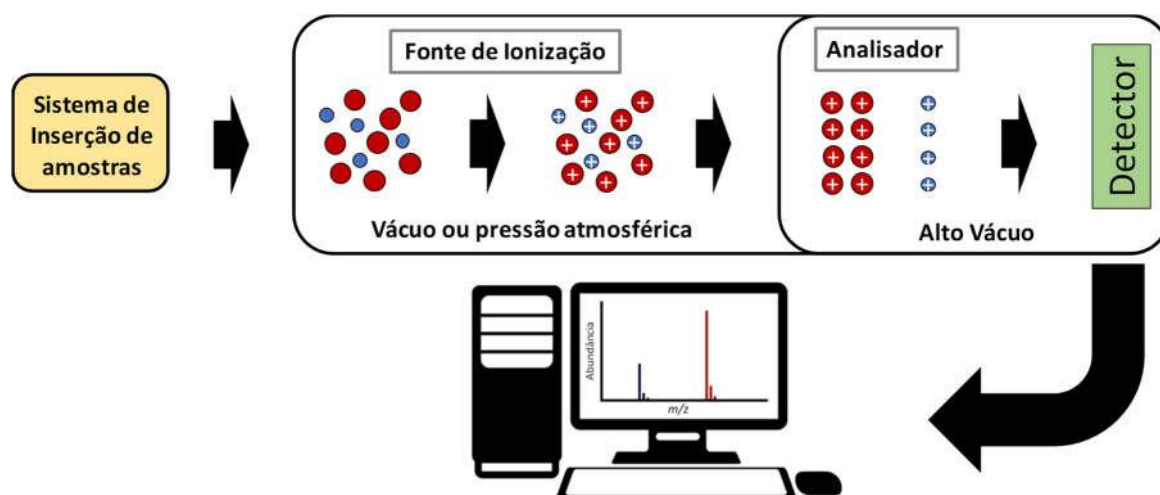


Figura 25. Componentes de um espectrômetro de massa (JUNIOR, 2020).

Os analisadores e os detectores ficam situados em uma câmara mantida sob alto vácuo. Enquanto que as fontes de ionização podem ser restritas a operação em alto vácuo, como a ionização por elétrons (EI, do inglês *electron ionization*), e fontes que operam a pressão ambiente, como a fonte de ionização por *electrospray* (ESI, do inglês *electrospray ionization*). Além disso, pode-se agrupar as fontes de ionização e função do estado físico do analito, sendo em fontes de ionização em estado sólido (MALDI, do inglês *matrix assisted laser desorption/ionization*), líquido (ESI) e em fase gasosa (EI).

Considerando as características da matriz analisada, a cerveja, dentro da espectrometria de massas, uma técnica útil para estudar biomoléculas e outros compostos não voláteis é a ionização por *electrospray* (ESI(±)FT-ICR MS). Na ESI(±)FT-ICR MS (Figura 26), uma solução que contém as moléculas da amostra é borrifada na ponta de um tubo capilar fino. Posteriormente, a amostra é submetida a um potencial de alta voltagem em sua superfície, fazendo com que pequenas gotículas carregadas sejam expulsas para dentro da câmara de ionização. As gotículas carregadas enfrentam um contrafluxo de um gás de secagem (em geral, nitrogênio) que evapora as moléculas de solvente das gotículas. O processo continua até que íons da amostra, livres de solvente, fiquem na fase gasosa (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

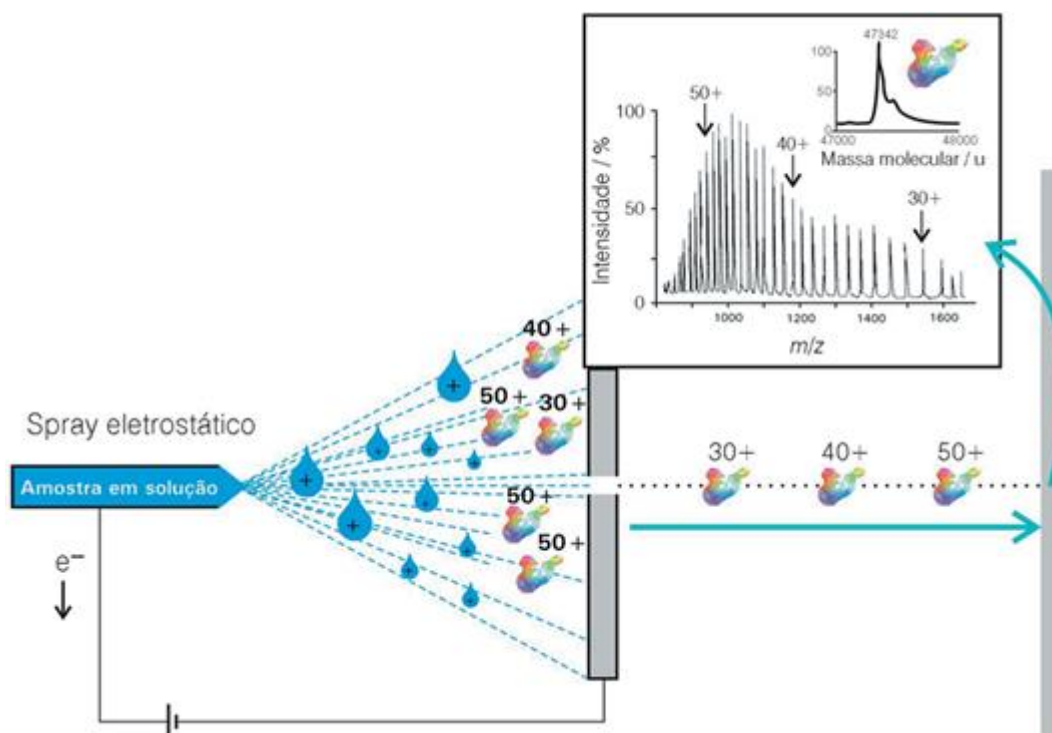


Figura 26. Diagrama de um espectrômetro de massas com ionização por *electrospray* (IES) (PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, 2015).

No ESI(±)FT-ICR MS podem ser formados três tipos de íons: íons moleculares, moléculas protonadas/desprotonadas e moléculas cationizadas ou anionizadas. A extensão com a qual cada um destes íons é formado pode ser compreendida em termos do balanço entre três processos essencialmente distintos, que ocorrem no interior do capilar: reações redox (oxidação/redução), que produzem íons moleculares (M^{+}) ou (M^{-}); reações ácido/base (protonação/desprotonação), que resultam na formação de moléculas protonadas ($[M+H]^{+}$ ou desprotonadas $[M-H]^{-}$) e, coordenação com cátions (geralmente os da família 1A) ou ânions (principalmente cloretos), que leva à formação de moléculas cationizadas ($[M+Na]^{+}$, $[M+K]^{+}$, ou anionizadas $[M+Cl]^{-}$) (CROTTI et al., 2006).

1.6.4. Quimiometria

A quimiometria constitui uma área da química, na qual aplica-se conhecimentos matemáticos e estatísticos para interpretar, investigar, classificar e prever condições tendo como partida um conjunto de dados químicos (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006). O uso das ferramentas quimiométricas permite o planejamento e a otimização de experimentos, o reconhecimento de padrões e a extração de dados químicos relevantes (DE SOUZA; POPPI, 2012).

No planejamento de experimentos, objetiva-se promover um melhor desempenho operacional e, conseqüentemente, a redução de tempo e custos. O reconhecimento de padrões pode ser utilizado para agrupar amostras em virtude da semelhança entre elas, permitindo a construção de modelos de classificação, no qual as informações das podem ser associadas a atributos pré-definidos. A partir do modelo validado, ele pode ser utilizado para classificar novas amostras (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006). Para tal, podem-se utilizar métodos supervisionados ou não supervisionados.

Os métodos supervisionados utilizam um conjunto de amostras (conjunto de treinamento) cujas propriedades e medidas são conhecidas. A partir do conjunto de treinamento, os modelos são construídos e usados para classificar novas amostras (conjunto de teste) com base em medidas indiretamente relacionadas à propriedade das amostras. Enquanto que métodos não supervisionados não requerem nenhuma informação prévia das amostras. Assim, os agrupamentos derivam das informações contidas nos dados experimentais e, por isso, não tem uma regra preditiva para agrupamento das amostras. Os métodos não supervisionados são conhecidos por métodos de análise exploratória de dados (EAD) (FERREIRA, M. M. C; ANTURNES, A. M; MELGO, M. S; VOLPE, 1999).

Dentre os métodos de análise exploratória destaca-se a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), cujo principal objetivo é reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados e preservar o máximo da informação. Na PCA os dados originais são transformados em uma matriz, onde as linhas representam as amostras e as colunas as variáveis. Nesse processo, calcula-se as combinações lineares das variáveis originais, resultando em novas variáveis não correlacionadas, chamadas componentes principais (PC, do inglês *Principal Components*). Quando o número de PC é significativamente menor que o número de variáveis inicial obtém-se um novo sistema de eixos para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões. Enquanto que pode-se citar a regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês *Partial Least Squares*) como um exemplo de método supervisionado que pode ser utilizada para relacionar uma ou mais variáveis resposta, permitindo identificar fatores que melhor modelam as variáveis dependentes (DE SOUZA; POPPI, 2012; FERREIRA, M. M. C; ANTURNES, A. M; MELGO, M. S; VOLPE, 1999).

Avanços na quimiometria estão relacionados à evolução de hardware e software de computadores e de equipamentos usados na realização de medidas laboratoriais. O uso de ambientes virtuais, atrelado a computadores com boa capacidade de processamento de dados, permitiu o desenvolvimento de algoritmos capazes de processar estatisticamente dados químicos. Estes avanços são significativos, pois possibilitam uma maior extração de informações de técnicas instrumentais, tais como: espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, cromatografia, etc (DE SOUZA; POPPI, 2012; FERREIRA, M. M. C; ANTURNES, A. M; MELGO, M. S; VOLPE, 1999).

O algoritmo a ser usado no tratamento estatístico dependerá do conjunto de dados e dos resultados que se espera obter. Nas aplicações expostas no tópico 1.7, observar-se que o emprego de métodos de análise multivariada, tais como a análise por componentes principais (PCA) e de mínimos quadrados parciais (PLS) tem apresentado bom desempenho no tratamento de dados de IV, RMN H^1 e ESI($\pm$)FT-ICR MS derivadas da avaliação do perfil químico de cervejas (ALMEIDA et al., 2006; DUARTE et al., 2004; PEREIRA et al., 2016).

1.7. Aplicação das técnicas analíticas voltadas a análise de cervejas

O avanço tecnológico impactou diretamente na melhoria das técnicas analíticas, recursos computacionais e softwares de processamento de dados, possibilitando uma melhoria significativa nas metodologias de análise e investigação de matrizes complexas, tais como os alimentos. Quando voltadas ao setor alimentício, as técnicas analíticas podem ser empregadas na autenticação de alimentos, tais como a verificação de origem (espécie, geográfica ou genética), conformidade do produto quanto ao rótulo, legislação local, métodos de produção, além de possibilitar a identificação de possíveis adulterações, falsificações e deterioração do produto (DANEZIS et al., 2016; WU et al., 2017). Na literatura científica existem relatos do emprego de diversas técnicas analíticas voltadas à análise de cervejas, as quais serão discutidas a seguir. É importante destacar que tais técnicas fornecem um grande volume de informações acerca das amostras, inviabilizando sua análise manual. Normalmente, os dados obtidos são tratados através de métodos estatísticos (ferramentas quimiométricas), possibilitando a extração das informações mais relevantes do conjunto (DANEZIS et al., 2016).

A aplicação do IV na autenticação de cervejas pode ser observado no estudo de Pierna e colaboradores (FERNÁNDEZ PIERNA et al., 2012), no qual a técnica foi utilizada para diferenciar uma cerveja de alto valor de mercado, do tipo Trapista (produzida sob a supervisão de monges da Ordem Trapista), marca Rochefort 8°, das demais presentes no mercado. O tratamento dos espectros de IV por PCA resultou num modelo com uma sensibilidade e especificidade de 100%, ou seja, todas as amostras foram corretamente classificadas como Rochefort 8° ou de outro rótulo.

Biancolillo e colaboradores (BIANCOLILLO et al., 2014) avaliaram o emprego do IV com outras técnicas analíticas, visando a diferenciação da cerveja artesanal Reale, bebida de alto valor produzida pela cervejaria italiana Birra del Borgo, das demais presentes no mercado. No trabalho, foram analisadas 60 amostras de cervejas (19 Reale, 12 outras da Birra del Borgo e 29 de outros produtores) através das técnicas de termogravimetria, espectroscopia no infravermelho médio, infravermelho próximo e ultravioleta (UV) e no visível (Vis). Inicialmente, os dados obtidos referentes aos fingerprints (impressões digitais) de cada uma das técnicas foram tratados com intermédio das ferramentas quimiométricas de modelagem suave independente por analogia de classe (SIMCA, do inglês *Soft Independent Modeling by Class Analogy*) e de calibração multivariada por mínimos quadrados parciais para análise discriminante (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares for Discriminant Analysis*), não atingindo o objetivo proposto. Posteriormente, os autores utilizaram a estratégia da fusão de dados, na qual as informações dos fingerprints obtidos por cada técnica foram agrupadas e aplicadas as ferramentas quimiométricas autoescalar e PLS-DA, resultando num modelo com 100% de sensibilidade e especificidade.

No estudo realizado por Duarte e colaboradores (DUARTE et al., 2004) foi proposto o uso conjunto do IV na região do médio com a RMN ^1H como ferramenta para controle de qualidade de cervejas. Foram utilizadas bebidas dos tipos Ale, Lager e sem álcool. A PCA do espectro de infravermelho, na região entre 1200 e 800 cm^{-1} , possibilitou separar as cervejas sem álcool das demais. A avaliação do espectro da RMN ^1H permitiu a identificação de álcoois (propanol, isobutanol e isopentanol) em pequena quantidade nas cervejas sem álcool, enquanto o PCA na região dos carboidratos (δ^{H} 3 a δ^{H} 6 ppm) e aromáticos (δ_{H} 6 a δ_{H} 10 ppm) permitiu separação dos três tipos de cerveja.

No estudo de Duarte e colaboradores (DUARTE et al., 2003) foi empregada a RMN ^1H na avaliação do perfil de carboidratos presentes nas cervejas. Na pesquisa, foram utilizados dois rótulos de cervejas do tipo *Lager*, denominadas de *Lager 1* e *Lager 2* e um de Ale, identificado como *Ale 1*. A aplicação da técnica analítica possibilitou aos pesquisadores identificar que as cervejas *Lager 1* e *Ale 1* apresentaram mesmo perfil de carboidratos, em geral, oligossacarídeos de glucose, enquanto a *Lager 2* era constituída basicamente por monômeros de glicose, indicando que o malte empregado na produção da *Lager 1* e *Ale 1* tiveram a mesma origem ou processo de maltagem. A identificação de carboidratos, RMN ^1H , em diferentes tipos de cerveja, também foi abordada por Petersen e colaboradores (PETERSEN et al., 2014).

Almeida e colaboradores (ALMEIDA et al., 2006) empregaram a RMN ^1H com intuito de verificar diferenças em uma marca de cerveja, devido a produção em três diferentes plantas fabris. A avaliação dos espectros e a aplicação de PCA na região dos hidrogênios aromáticos permitiu uma separação das amostras de acordo com seus locais de produção indicando necessidade de melhoria dos processos produtivos voltados à padronização do produto. No estudo de Rodrigues e colaboradores (RODRIGUES et al., 2011) a avaliação do espectro da RMN ^1H , na região dos hidrogênios aromáticos por PCA e mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês *Partial Least Squares*) permitiu a identificação de compostos que são resultantes do envelhecimento da cerveja quando submetida a luz e calor, possibilitando a identificação de bebidas com armazenamento incorreto.

Pereira e colaboradores (PEREIRA et al., 2016) avaliaram o perfil químico de cervejas comerciais brasileiras de 8 diferentes marcas, com intuito de desenvolver metodologia que permitisse a detecção de fraude derivada da troca de rótulos e tampas de cervejas de baixo custo pelas de maior valor. No estudo, foi empregada a espectrometria de massas com a ionização por *paper spray* (ESI($\pm$))FT-ICR MS) e foram obtidos espectros de 141 amostras de cerveja do estilo *American Lager*, sendo 3 marcas de maior valor comercial e 5 marcas de menor valor comercial. Os espectros de massas foram obtidos através de varreduras nos modos positivo e negativo, de 100-1800 m/z , região atribuída a malto-oligossacarídeos resultantes da hidrólise dos polissacarídeos da cevada durante os processos de mostura, fermentação e maturação da bebida. Os sinais desses açúcares foram identificados no modo positivo

na forma de adutos de sódio e potássio, enquanto que no negativo na forma de cloretos e dihidrogenofosfatos. Tendo em vista a baixa estabilidade do modo negativo, apenas os dados do positivo foram tratados através de PCA, PLS-DA e do método de seleção dos preditores ordenados (OPS, do inglês Ordered Predictors Selection) resultando na construção de um modelo de classificação com 100% de confiabilidade, exatidão, acórdância e concordância, permitindo a correta separação das amostras de acordo com seus respectivos fabricantes.

Guerrini e colaboradores (GUERRINI et al., 2018) avaliaram por CG-EM a perda de compostos aromáticos voláteis durante a fermentação e o impacto sensorial caso esses compostos fossem recuperados. Foi verificado que durante a fermentação da cerveja ocorre grande liberação de gás carbônico e vapores de água e, junto a eles, são perdidos diversos compostos aromáticos, tais como ésteres (acetato de propila, acetato de isoamilo, etc.), álcoois (heptan-1-ol, octan-1-ol, etc.) e terpenos (linalol, citronelol, etc.). Segundo os autores, a condensação, recuperação e reinjeção desses compostos durante a fermentação favorece as reações entre álcoois e ácidos, produzindo ésteres e propiciando ganhos sensoriais relevantes à bebida.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o perfil químico de cervejas brasileiras por meio das técnicas analíticas de infravermelho na região do médio (IV), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e espectrometria de massas (ESI($\pm$)FT-ICR MS) visando a diferenciação de cervejas artesanais das industriais (marcas comuns ao mercado brasileiro)

2.1. Objetivos específicos

- Elaborar e produzir padrão de cerveja puro malte;
- Elaborar e produzir padrão de cerveja com os substituintes da cevada: milho e arroz;
- Selecionar marcas comerciais de cervejas puro malte;
- Caracterizar as cervejas puro malte comerciais, o padrão de cerveja puro malte e o padrão de cerveja com substituintes de acordo com a legislação brasileira;
- Caracterizar as cervejas estudadas e, adicionalmente, comparar com os dados declarados pelos fabricantes das amostras industriais, não cabendo juízo de valor em função das marcas analisadas
- Estudar o perfil das cervejas puro malte comerciais, do padrão de cerveja puro malte e do padrão da cerveja com adjuntos por infravermelho, ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas;
- Tratar estatisticamente os dados com emprego de ferramentas quimiométricas.

3. METODOLOGIA

3.1. Amostras

Para a realização do estudo foram selecionadas um total de 30 amostras de cervejas. Dentre elas, 21 cervejas industriais de rótulos comuns ao mercado brasileiro e 09 produzidas artesanalmente (PPM, P15M, P30M, P45M, P15A, P30A, P45A, PPM SC e P15M SC) para o escopo deste trabalho.

3.1.1. Amostras industriais

As amostras industriais foram adquiridas em supermercados da Grande Vitória/ES, comercializadas em latas de alumínio, contemplando um lote de 21 diferentes rótulos de 10 cervejarias distintas, sendo 10 puro malte e 11 com Adjuntos. As amostras industriais foram codificadas alfanumericamente, sendo o rótulo representado por uma letra e a cervejaria produtora por um número. A enumeração e informações presentes em seus rótulos foram reunidas na Tabela 10. Nela, podemos observar que as amostras industriais selecionadas são majoritariamente cervejas do Estilo *Pilsen* e *Lager* com teor alcoólico entre 0,00 (L5 e P8) a 5,5 %v/v (R2). Além disso, é possível notar que os rótulos trazem poucas informações quanto as propriedades físico-químicas das bebidas, sendo o teor alcoólico a única propriedade informada em todas as embalagens. Dentre os rótulos analisados, somente a cerveja S10 traz informação sobre o amargor e a cor.

Tabela 10. Informações básicas das amostras estudadas. Informações obtidas nos rótulos dos produtos. Classificação com base na composição: Puro Malte Industrial (PMI) e com Adjunto Industrial (ADI).

Cerveja	Estilo	Composição	Teor Alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
A1	Não informado	Água, malte, lúpulo, antioxidante INS 316 e estabilizante INS 405.	4,1	Não informado	Não informado	PMI

Tabela 10. Continuação.

Cerveja	Estilo	Composição	Teor Alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
B2	<i>Pilsen</i>	Água, malte, cereais não malteados, carboidratos, lúpulo, antioxidantes INS 316 e 221 e estabilizante INS 405.	4,6	Não informado	Não informado	ADI
C3	<i>Lager</i>	Água, malte, lúpulo, antioxidante INS 316 e estabilizantes INS 414 e 405.	4,7	Não informado	Não informado	PMI
D1	<i>Pilsen</i>	Água, malte, carboidratos de cereais, lúpulos, antioxidante INS 316 e estabilizante INS 405.	4,7	Não informado	Não informado	ADI
E4	<i>Lager</i>	Água, malte, lúpulo e levedura.	5,0	Não informado	Não informado	PMI
F5	<i>Pilsen</i>	Água, malte de cevada, carboidratos, lúpulo, antioxidantes INS 316 e 223 e estabilizante INS 405.	4,5	Não informado	Não informado	ADI
G6	<i>Pilsen</i>	Água, malte, cereais não malteados, lúpulo, estabilizantes INS 405 e antioxidante INS 316.	4,6	Não informado	Não informado	ADI
H2	<i>Pilsen</i>	Água, malte, cereais não malteados e lúpulo.	4,7	Não informado	Não informado	ADI

Tabela 10. Continuação.

Cerveja	Estilo	Composição	Teor Alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
I2	Pilsen	Água, malte, cereais não malteados e lúpulo.	4,8	Não informado	Não informado	ADI
J7	Não informado	Água, malte, carboidratos, lúpulo, estabilizante INS 305 e antioxidantes INS 223 e 316.	4,7	Não informado	Não informado	ADI
K6	Lager	Água, Malte e lúpulo.	4,4	Não informado	Não informado	PMI
L5	Pilsen	Água, malte de cevada, lúpulo, carboidratos e lúpulo.	0,0	Não informado	Não informado	ADI
M6	Pilsen	Água, malte, cereais não maltados e lúpulo, estabilizante INS405 e antioxidante INS 316	4,7	Não informado	Não informado	ADI
N5	Pilsen	Água, malte de cevada, carboidratos, lúpulo, estabilizante INS 405 e antioxidantes INS 316 e INS 223	4,5	Não informado	Não informado	ADI
O7	Pilsen	Água, malte, lúpulo, estabilizante INS 405 e antioxidante INS 316.	4,7	Não informado	Não informado	PMI
P8	Pilsen	Água, malte, cereais não malteados, lúpulo, aromatizante, aroma natural de malte e antioxidantes INS 316 e INS 224	0,0	Não informado	Não informado	ADI

Tabela 10. Continuação.

Cerveja	Estilo	Composição	Teor Alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
Q9	<i>Não informado</i>	Água, Malte e lúpulo.	5,0	Não informado	Não informado	PMI
R2	<i>Lager</i>	Água, Malte, lúpulo, antioxidantes INS 316 e INS 221	5,5	Não informado	Não informado	PMI
S10	<i>Pilsen</i>	Água, Malte e lúpulo.	4,8	11,0	10	PMI
T8	<i>Lager</i>	Água, Malte e lúpulo.	4,6	Não informado	Não informado	PMI
U7	<i>Lager</i>	Água, malte pilsen, malte torrado, lúpulo, estabilizante INS 405 e antioxidantes INS 316 e INS 223	4,7	Não informado	Não informado	PMI

A partir da avaliação da composição da bebida fornecida pelo fabricante, as cervejas foram classificadas em “Adjunto Industrial”, amostras produzidas com malte de cevada e adjuntos (cereais não maltados e carboidratos), e “Puro Malte Industrial”, sendo aquelas fabricadas com malte de cevada e isenta de adjuntos. Cabe destacar que, as cervejarias indicam o uso de carboidratos, cereais não malteados, carboidratos de cereais, os quais podem ser classificados como adjuntos, contudo não especificam a natureza desses compostos. Entendemos que informações detalhadas sobre os ingredientes utilizados na produção da bebida traria maior transparência e permite que o consumidor entenda melhor o produto que está ingerindo.

3.1.2. Amostras artesanais

Com intuito de verificar possível distinção no perfil químico e nas propriedades físico-químicas das cervejas em função da composição e do processo fabril, foram produzidas 9 amostras de cervejas artesanais, cada uma delas em lote único de 25 litros. Dentre elas, 1 puro malte (PPM) e 8 com adjuntos (P15M, P30M, P45M, P15A, P30A, P45A, PPM SC e P15M SC). Das amostras produzidas com adjuntos, 6 derivaram da substituição do malte de cevada, em 15, 30 e 45% m/m, por milho (P15M, P30M e P45M) e arroz (P15A, P30A e P45A) na etapa da brasagem. Enquanto que 2 derivam na adição de sacarose na etapa de carbonatação (PPM SC e P15M

SC). Para a quantificação dos insumos usados na produção das amostras artesanais de cervejas foi utilizado o software *BeerSmith*, versão 2.0 (BEERSMITH, 2012), o qual foi parametrizado para bebidas conforme características apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11. Perfil parametrizado, com os valores desejados, para a produção das cervejas artesanais puro malte e com adjuntos em lotes de 25 litros cada. Classificação com base na composição: Puro Malte Artesanal (PMA) e com Adjunto Artesanal (ADA).

Cervejas	Estilo	Composição	Teor alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
PPM	<i>Pilsen</i>	Água, malte pilsen Agraria (5,500 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500 g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	PMA
P15M	<i>Pilsen</i>	Água, malte pilsen Agraria (4,675 kg), cereais não malteados (15% m/m milho em flocos - 0,825 kg), lúpulo (8g chinook e 5g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,5g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	ADA

Tabela 11. Continuação.

Cervejas	Estilo	Composição	Teor alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
P30M	Pilsen	Água, malte pilsen Agraria (3,850 kg), cereais não malteados (30% m/m milho em flocos - 1,650 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500 g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	ADA
P45M	Pilsen	Água, malte pilsen Agraria (3,025 kg), cereais não malteados (45% m/m milho em flocos - 2,475 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	ADA
P15A	Pilsen	Água, malte pilsen Agraria (4,675 kg), cereais não malteados (15% m/m arroz em flocos - 0,825 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500 g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	ADA

Tabela 11. Continuação.

Cervejas	Estilo	Composição	Teor alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
P30A	<i>Pilsen</i>	Água, malte pilsen Agraria (3,850 kg), cereais não malteados (30% m/m arroz em flocos - 1,650 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500 g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	ADA
P45A	<i>Pilsen</i>	Água, malte pilsen Agraria (3,025 kg), cereais não malteados (45% m/m arroz em flocos - 2,475 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500 g). Carbonatação: 12,000 g/L Extrato de Malte	4,8	10	12	ADA
PPM SC	<i>Pilsen</i>	Água, malte pilsen Agraria (5,500 kg), lúpulo (8,000 g chinook e 5,000 g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,500 g). Carbonatação: 10,000 g/L sacarose	4,8	10	12	ADA

Tabela 11. Continuação.

Cervejas	Estilo	Composição	Teor alcoólico (%v/v)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Classificação
P15M SC	<i>Pilsen</i>	Água, malte pilsen Agraria (4,675 kg), cereais não malteados (15% m/m milho em flocos - 0,825 kg), lúpulo (8g chinook e 5g sob fervura, respectivamente, de 45 e 5 minutos) e levedura pilsen fermentis S-189 (1 pacote de 11,5g). Carbonatação: 10g/L sacarose	4,8	10	12	ADA

As etapas de mostura e fervura foram realizadas no equipamento *BeerMax*, o qual é desenvolvido especialmente para as etapas quentes da produção cervejeira artesanal, possuindo sistema de aquecimento elétrico controlado por computador. Enquanto que para etapa da fermentação e maturação (etapas frias) foi utilizado o freezer horizontal da marca Eletrolux, modelo H500, acoplado a um controlador de temperatura marca Ageon, modelo G101.



Figura 27. Equipamentos utilizados na produção das amostras de cerveja. A esquerda equipamento *BeerMax* e a direita freezer horizontal acoplado com controlador digital de temperatura.

A primeira etapa de produção (mostura), consistiu na adição do malte de cevada moído (e flocos de milho/arroz, no caso da cerveja produzida com adjunto), junto a 25 litros de água previamente aquecidos a 40°C. Durante a mostura, etapa que dura aproximadamente 1 hora, a temperatura foi elevada gradualmente até 68°C, conforme apresentado na Figura 28.

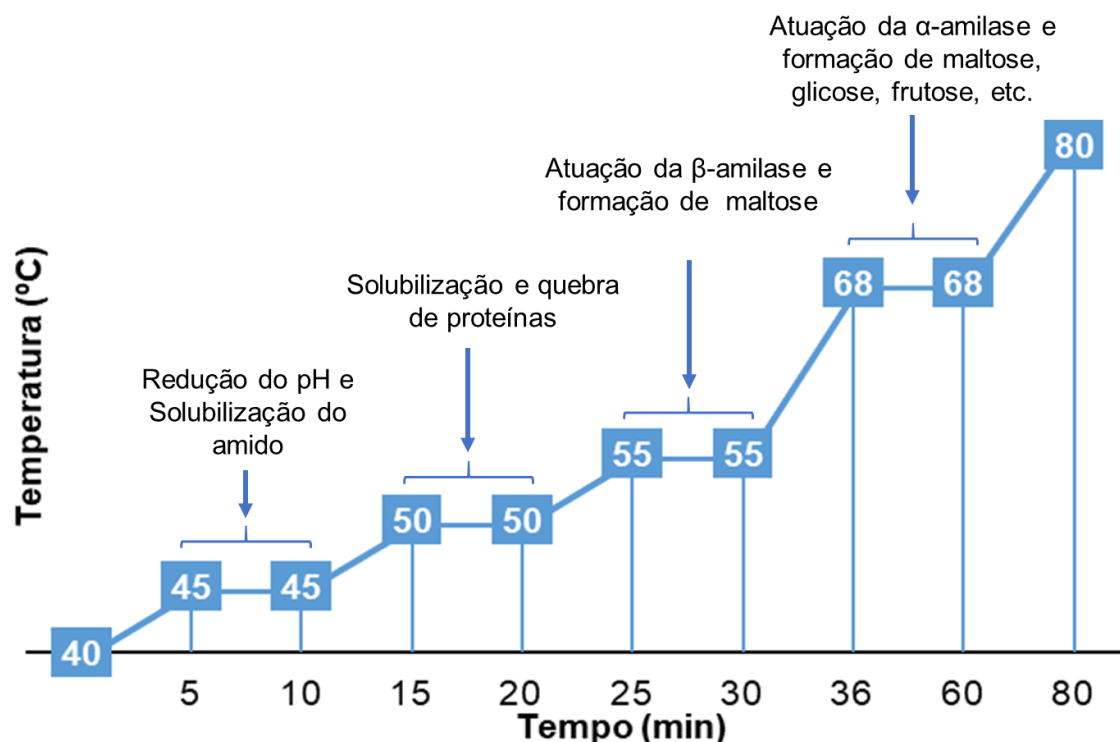


Figura 28. Rampa de temperatura aplicada durante a mostura.

Ao fim da mostura, os grãos foram removidos e o líquido (mosto) foi aquecido até 80°C e, em seguida, o mosto foi submetido à fervura por 1h com adição do lúpulo, nos tempos de 15 e 45 minutos após seu início. Findada à fervura, o volume foi corrigido para 25 litros e submetido a resfriamento. Ao atingir a temperatura de 30°C o líquido foi transferido para fermentador (Figura 29), recipiente fechado de plástico atóxico fabricado em material de grau alimentício, e inoculado o fermento.

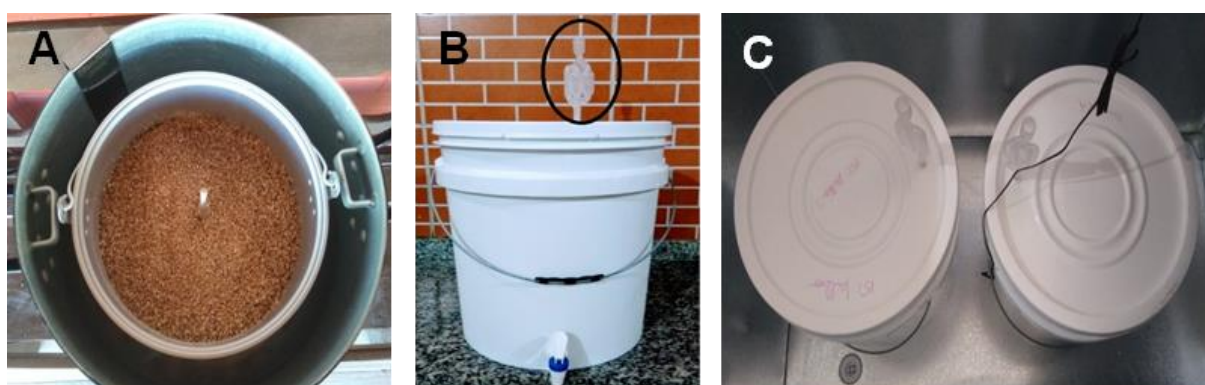


Figura 29. Etapas da produção da cerveja. (A) início da mostura no equipamento BeerMax, (B) imagem ilustrando o fermentador/maturador e (C) fermentador/maturador armazenado sob temperatura controlada.

A bebida foi mantida no fermentador a (18 ± 1) °C durante 15 dias, tempo necessário para a conversão dos açúcares, presentes no líquido, em gás carbônico e

etanol. Após esse período, foi transferida para um maturador, recipiente semelhante ao fermentador (Figura 29), e mantida em maturação a $(15 \pm 1) ^\circ\text{C}$ por 30 dias. Ao fim da maturação a cerveja foi armazenada em garrafas de vidro âmbar de 600mL devidamente higienizadas e esterilizadas. A carbonatação da bebida ocorreu por refermentação através da adição de extrato de malte ou sacarose, conforme descrito na Tabela 11.

3.2. Ensaio e equipamentos

3.2.1. Preparo da amostra

Como etapa preliminar a caracterização físico-química e obtenção dos dados instrumentais foi realizada a remoção dos gases característicos às cervejas, em especial o CO_2 , visto que sua presença pode gerar interferências nos resultados a serem obtidos (BRASIL, 2008). Para tal, 350 mL de cerveja foram transferidos para um bquer com capacidade de 1 L e posteriormente acondicionado em banho ultrassônico, fabricante LimpSonic, modelo LS-55DA-2/X, preenchido com água deionizada. As condições de otimização do banho de ultrassom foram: frequência de 40 kHz, potência 400 W, tempo de cavitação de 6 minutos e temperatura do banho de $20 ^\circ\text{C}$ (DORVAL M. COELHO NETO, CRISTINA M. S. SAD, BETINA P. OLIVEIRA, EUSTÁQUIO V. R. CASTRO, WANDERSON ROMÃO, PAULO R. FILGUEIRAS, 2018; DORVAL M. COELHO NETO, CRISTINA M. S. SAD, MAYARA SILVA; FRANCINE D. DOS SANTOS, LAÍNE B. PEREIRA, RAYANE R. B. CORONA, JOÃO F. P. BASSANE, EUSTÁQUIO V. R. DE CASTRO, PAULO R. FILGUEIRAS, 2017). As amostras submetidas a esse processo foram denominadas amostras “desgaseificadas”.

3.2.2. Propriedades físico-químicas

As propriedades físico-químicas das bebidas desgaseificadas foram determinadas de acordo com os métodos contidos no MOBV (BRASIL, 2008), quanto a densidade, grau alcoólico real, pH e acidez total.

A densidade do mosto, à 20°C , foi medida através de densímetro eletrônico marca Anton Paar, modelo Density Meter DMA 35. O grau alcoólico foi determinado através da destilação da bebida e posterior medição da densidade do destilado a

20°C, seguindo o método descrito no MOBV. Nesse método, 200 mL de cerveja degaseificada são medidos em balão volumétrico e, posteriormente, transferidos ao balão de destilação. Após, o balão volumétrico é lavado com 10 mL de água deionizada e o volume adicionado ao balão de destilação. A solução (cerveja + água) é destilada até obter-se cerca de 2/3 do volume inicial no balão coletor. O destilado é resfriado a 20 °C e sua densidade é aferida. O grau alcoólico real é expresso em %v/v e está tabelado no MOBV de acordo com a densidade do destilado.

O pH foi determinado por potenciometria a 20 °C, conforme método 04 de fermentados do MOBV, para isso foi usado pHmetro marca Metrohm, modelo 827 pH lab. O equipamento foi calibrado antes das medições com solução Buffer, marca SpecSol, com pH (7,00 ± 0,02) a (20,00 ± 0,02) °C e depois outra solução da mesma marca com pH (4,00 ± 0,01) a (20 ± 0,02) °C.

A acidez total é determinada por titulação ácido-base, no qual 10 ml da amostra isenta de gás é diluída em 100 mL de água deionizada e titulada com hidróxido de sódio 0,1 N em meio com 3 gotas de fenolftaleína. A concentração total de compostos ácidos na bebida é calculada conforme a Equação 4. Onde A_t representa a acidez total em meq/L, n o volume em mL de solução titulante gasto, N a normalidade da solução de hidróxido de sódio e V o volume da amostra em mL.

$$A_t = \frac{1000 \cdot n \cdot N}{V} \quad (4)$$

O amargor da bebida é determinado em unidades internacionais de amargor (IBU, do inglês *International Bitterness Units*), que são equivalentes a concentração, em miligramas por litro, de iso- α -ácidos presentes na bebida. O método mais utilizado para determinação dessa propriedade é o EBC. Ele consiste na acidificação de 10 mL de cerveja com 0,5 mL de ácido clorídrico 6 mol·L⁻¹ e com posterior adição de 20 mL de isooctano. Posteriormente a mistura é agitada em agitador magnético por 15 minutos e centrifugada a 1000 rotações por minuto (rpm) durante 3 minutos. O sobrenadante (iso- α -ácidos) é removido e a absorbância no UV medida a 275 nm, usando isooctano como branco. O amargor, em IBU, é determinado de acordo com a Equação 5, onde Abs_{275nm} é a absorbância (CABALLERO; BLANCO; PORRAS, 2012; MOURA-NUNES et al., 2016; PHILPOTT; TAYLOR; WILLIAMS, 1997; SUPELCO, 2017).

$$IBU = Abs_{275nm} \cdot 50 \quad (5)$$

A coloração foi determinada através do método EBC 9.6 (ANALYTICA -EBC, 2010; HACH, 2012), nele a cerveja desgaseificada é filtrada para retenção de partículas superiores a 45µm e, posteriormente, realizada a medição da absorbância da amostra a 430 nm, o qual foi realizado por intermédio do equipamento de UV/VIS marca Perkin Elmer, modelo Lambda 45, e emprego da Equação 6. Onde, EBC representa a cor da bebida, Abs_{430nm} a absorbância e f o fator de diluição da amostra. Caso a amostra não seja diluída, aplica-se $f = 1$, fator que foi aplicado no presente estudo. Entretanto, para exemplificação, caso a diluição seja a 50%, aplica-se $f = 0,5$.

$$EBC = Abs_{430nm} \times f \times 25 \quad (6)$$

3.2.3. Análises instrumentais

Infravermelho

As amostras desgaseificadas foram analisadas por infravermelho no equipamento Perkin Elmer, modelo Spectrum 400. Os espectros de NIR foram obtidos em 10000 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 8 cm^{-1} e 128 scans. Os espectros de MIR foram obtidos em 4000 a 650 cm^{-1} , foram programados com resolução de 8 cm^{-1} e 32 scans. Vale destacar que, as medidas foram realizadas em triplicata sendo avaliado o espectro médio resultante.

RMN 1H

As análises de RMN de 1H foram realizadas no equipamento marca Varian, modelo VNMRs 400, operando com um campo magnético de 9,4T, utilizando uma sonda de 5mm. Os espectros foram obtidos das amostras desgaseificadas de cerveja (600 µL), a 26 °C, utilizando, como padrão externo em tubo de inserção, solução de ácido maleico (6,28 ppm) em água deuterada na concentração de 6,7 mg·mL⁻¹. Os parâmetros de aquisição foram definidos com frequência de 399,73 Mhz, janela espectral de 6410,30 Hz, tempo de aquisição de 3,834 s, frequência de pré-saturação de 4,6092 Hz, tempo de espera (relaxação) de 2 s, sequência de pulso PRESAT (supressão do sinal atribuído aos hidrogênios da água em 4,64 ppm), pulso de 90° e 32 scans.

ESI(±)FT-ICR MS

Os espectros de massas foram adquiridos em triplicata no espectrômetro de massas ESI(±)FT-ICR MS, marca Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha, modelo 9.4 T Solarix. A calibração do equipamento foi feita a partir da solução de Arginina (m/z 200 a 1500). No preparo da amostra, 20 μ L de cerveja foram diluídos em 1 mL de acetonitrila, observando a formação de precipitados, os quais foram filtrados para evitar possível entupimento do capilar do equipamento. A faixa de aquisição foi de m/z 150 a 1500, modos positivo e negativo, e precisão massa de < 2 ppm.

3.2.4. Análise quimiométrica

Os dados obtidos por meio das técnicas analíticas descritas no item 2.4 foram tratados utilizando o software Matlab R2013a (THE MATHWORKS, 2013) para criação dos modelos de regressão PLS e SVR e Análise por Componentes Principais (PCA). As amostras foram divididas, sendo 70% delas (21 amostras) para o grupo de calibração e 30% para o grupo de teste (9 amostras), de acordo com o algoritmo Kennard-Stone (Kennard & Stone, 1969). As amostras do grupo de calibração e teste foram as mesmas para todos os modelos.

Para RMN ^1H , o tratamento *interval correlation shifting* (icoshift) (SAVORANI; TOMASI; ENGELSEN, 2010; TOMASI; SAVORANI; ENGELSEN, 2011) foi usado para alinhamento dos espectros. Os pré-tratamentos utilizados para criação dos modelos quimiométricos foram o *adaptive iteratively reweighed penalized least squares* (airPLS) (ZHANG; CHEN; LIANG, 2010), derivada de primeira ou segunda ordem com 3, 9, 7 ou 15 janelas e polinômio de segundo grau, autoescalar, centralização e normalização na média, *standard normal variate* (SNV), *multiplicative scatter correlation* (MSC), autoescalar, também combinações deles. O pré-tratamento para a melhor modelo de cada propriedade é apresentado na sessão de Resultados e Discussão.

A calibração cruzada para otimização do número de variáveis latentes (VL) das regressões por mínimos quadrados parciais (PLS) foi realizada por metodologia k-

fold,(BOYCE et al., 2002) com k igual a 5. Também foram realizados modelos de regressões por máquina de vetores de suporte (SVR, do inglês *Support Vector Regression*), no qual mapeia amostras em espaço de alta dimensão através da função Kernel e as amostras podem ser separadas pelo hiperplano de separação otimizado (OSH) (FARHAT, 1992; SMOLA; SCHÖLKOPF, 2004). Os parâmetros dos modelos SVR também foram otimizados [custo (C), margem (ϵ) e gama (γ)]. Os modelos SVR foram avaliados segundo os parâmetros de desempenho de acurácia [*root mean square error of calibration* (RMSEC) e *root mean square error of prediction* (RMSEP)] e de linearidade (coeficiente de determinação, R^2). Já, os modelos de PLS também foram avaliados segundo os parâmetros de acurácia, linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Propriedades físico-químicas

Nesta seção apresentaremos os resultados obtidos, quanto às propriedades físico-químicas (pH, cor, amargor, acidez total, teor alcoólico real e densidade), de todas as bebidas avaliadas no presente estudo (Tabela 12). Ressalta-se que o intuito deste trabalho é caracterizar as cervejas estudadas e, adicionalmente, comparar com os dados declarados pelos fabricantes das amostras industriais, não cabendo juízo de valor em função das marcas analisadas. As medidas foram realizadas em triplicata e os valores apresentados na Tabela 12 são os valores médio obtidos.

Na Tabela 12 é possível observar que todas as cervejas apresentam caráter ácido, com pH variando entre 4,52 (I2) a 5,00 (Q9 e T8), valores que vão de encontro com os relatados na literatura (GALAFASSI et al., 2011; HAMPSON, 2008; ROSA; AFONSO, 2015). Em geral, as cervejas puro malte (artesaniais e industriais) apresentam maiores valores quando comparadas as bebidas com adjuntos (artesaniais e industriais). Em relação a acidez total foram observados valores entre 18 (J7) a 40 meq/L (K6), condizentes com relatos da literatura (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014; GOIANA et al., 2016).

Tabela 12. Caracterização físico-química das amostras cervejas comerciais e artesanais. Desvio-padrão informado entre parêntesis. Dado não informado (N/I).

Amostras	Estilo	Classificação	pH	Acidez total (meq·L ⁻¹)	Cor (EBC)	Amargor (IBU)	Teor Alcoólico Fab. ¹ (%v/v)	Teor Alcoólico (%v/v)	Densidade (g·mL ⁻¹)
A1	N/I	PMI	4,91 (0,02)	39,00 (0,02)	10,85 (0,50)	10,267 (0,001)	4,1	3,70 (0,05)	1,0066 (0,0001)
B2	Pilsen	ADI	4,77 (0,01)	30,00 (0,02)	7,25 (0,10)	9,450 (0,001)	4,6	4,10 (0,05)	1,0058 (0,0001)
C3	Lager	PMI	4,95 (0,01)	37,00 (0,04)	11,13 (0,33)	11,300 (0,001)	4,7	4,20 (0,01)	1,0074 (0,0001)
D1	Pilsen	ADI	4,55 (0,01)	29,00 (0,10)	8,90 (0,01)	10,016 (0,001)	4,7	4,50 (0,08)	1,0065 (0,0001)
E4	Lager	PMI	4,75 (0,03)	28,00 (0,02)	6,90 (0,20)	18,316 (0,001)	5,0	4,10 (0,10)	1,0047 (0,0001)
F5	Pilsen	ADI	4,67 (0,02)	25,00 (0,40)	7,53 (0,10)	9,933 (0,001)	4,5	4,20 (0,10)	1,0067 (0,0001)
G6	Pilsen	ADI	4,65 (0,03)	23,00 (0,10)	5,90 (0,15)	10,333 (0,001)	4,6	4,50 (0,10)	1,0054 (0,0001)
H2	Pilsen	ADI	4,78 (0,01)	24,00 (0,03)	6,00 (0,10)	9,633 (0,001)	4,7	3,80 (0,10)	1,0087 (0,0001)
I2	Pilsen	ADI	4,52 (0,01)	24,00 (0,02)	6,88 (0,10)	10,133 (0,001)	4,8	4,00 (0,10)	1,0057 (0,0001)
J7	N/I	ADI	4,81 (0,01)	18,00 (0,05)	6,58 (0,10)	9,200 (0,001)	4,7	4,70 (0,05)	1,0075 (0,0001)
K6	Lager	PMI	4,75 (0,01)	40,00 (0,02)	7,95 (0,10)	8,100 (0,001)	4,4	3,90 (0,10)	1,0082 (0,0001)
L5	Pilsen	ADI	4,82 (0,02)	34,00 (0,02)	8,33 (0,10)	9,316 (0,001)	0,0	0,00 (0,00)	1,0252 (0,0001)
M6	Pilsen	ADI	4,60 (0,01)	29,00 (0,01)	6,30 (0,03)	7,750 (0,001)	4,7	4,60 (0,10)	1,0044 (0,0001)
N5	Pilsen	ADI	4,70 (0,01)	27,00 (0,02)	6,45 (0,10)	10,950 (0,001)	4,5	4,50 (0,10)	1,0069 (0,0001)
O7	Pilsen	PMI	4,91 (0,01)	45,00 (0,02)	10,35 (0,10)	13,700 (0,001)	4,7	4,50 (0,10)	1,0080 (0,0001)
P8	Pilsen	ADI	4,76 (0,01)	21,00 (0,02)	5,40 (0,03)	13,500 (0,001)	0,0	0,00 (0,00)	1,0195 (0,0001)
Q9	N/I	PMI	5,00 (0,05)	30,00 (0,15)	8,73 (0,10)	19,816 (0,001)	5,0	4,30 (0,10)	1,0034 (0,0001)
R2	Lager	PMI	4,95 (0,01)	48,00 (0,02)	10,15 (0,05)	14,016 (0,001)	5,5	4,40 (0,10)	1,0082 (0,0001)
S10 ²	Pilsen	PMI	4,96 (0,01)	36,00 (0,10)	8,95 (0,10)	10,516 (0,001)	4,8	3,90 (0,10)	1,0058 (0,0001)
T8	Lager	PMI	5,00 (0,05)	28,00 (0,02)	6,08 (0,10)	13,350 (0,001)	4,6	4,40 (0,10)	1,0069 (0,0001)
U7	Lager	PMI	4,96 (0,01)	31,00 (0,02)	10,32 (0,12)	16,183 (0,001)	4,7	4,00 (0,10)	1,0037 (0,0001)
PPM	Lager	PMA	4,88 (0,01)	32,00 (0,02)	11,95 (0,25)	12,316 (0,001)	4,8	5,00 (0,05)	1,0077 (0,0001)
P15M	Lager	ADA	4,78 (0,02)	33,00 (0,02)	10,50 (0,10)	11,483 (0,001)	4,8	4,90 (0,02)	1,0097 (0,0001)
P30M	Lager	ADA	4,67 (0,01)	31,00 (0,02)	10,38 (0,30)	12,983 (0,001)	4,8	4,80 (0,30)	1,0111 (0,0001)
P45M	Lager	ADA	4,59 (0,01)	34,00 (0,02)	9,78 (0,10)	13,250 (0,001)	4,8	4,60 (0,02)	1,0134 (0,0001)
P15A	Lager	ADA	4,80 (0,04)	37,00 (0,60)	10,30 (0,10)	11,900 (0,001)	4,8	4,90 (0,02)	1,0082 (0,0001)
P30A	Lager	ADA	4,69 (0,01)	30,00 (0,01)	9,00 (0,20)	11,233 (0,001)	4,8	4,10 (0,05)	1,0084 (0,0001)
P45A	Lager	ADA	4,57 (0,01)	25,00 (0,04)	8,55 (0,10)	10,316 (0,001)	4,8	3,40 (0,10)	1,0083 (0,0001)
PPM SC	Lager	ADA	4,96 (0,01)	25,00 (0,06)	11,81 (0,20)	11,933 (0,001)	4,8	5,00 (0,08)	1,0080 (0,0001)
P15M SC	Lager	ADA	4,92 (0,03)	27,00 (0,02)	10,42 (0,10)	10,500 (0,001)	4,8	4,90 (0,02)	1,0099 (0,0001)

1

¹ Teor alcoólico informado pelo fabricante das cervejas industriais ou estimando para as cervejas artesanais

² Apenas o fabricante da cerveja S10 informou a intensidade de cor da bebida e amargor da bebida, sendo, respectivamente, de 10 EBC e 11 IBU

A determinação da cor permite classificar todas cervejas estudadas como “claras” ($EBC \leq 20$). Pode-se observar que, em geral, as cervejas puro malte (artesanais e industriais) são aquelas que possuem maior intensidade de cor. Nas amostras artesanais, foi observado que o aumento na concentração de adjuntos pode provocar redução na cor (EBC) da bebida. Tal redução na cor das cervejas artesanais, em função do aumento na quantidade de adjuntos, pode ser associada a menor concentração, no mosto, de aminoácidos e carboidratos derivados do malte. Esses aminoácidos e carboidratos, em elevadas temperaturas, sofrem reações de Maillard, resultando na formação de melanoidinas, compostos que contribuem na intensidade da coloração da bebida (BARTH, 2013; HUGHES, 2001; KUNZE, 2004).

As amostras analisadas possuem amargor que variam entre 7,750 a 19,817 IBU. É importante destacar que a avaliação dos valores obtidos para as amostras artesanais indica que a adição de milho colabora para o aumento do amargor da cerveja, enquanto que o emprego do arroz como adjunto tem efeito inverso. É importante destacar que, dentre as amostras industriais, apenas S10 trouxe em sua embalagem dados sobre cor e amargor. Com intuito de facilitar a comparação entre o valor experimental (Tabela 12) com o informado no rótulo (Tabela 10), representaremos os dados comparativos com a seguinte configuração: “experimental/rótulo”. Comparando a cor e o amargor experimental e a declarada pelo fabricante, observa-se que os valores foram próximos, sendo eles, respectivamente, $8,95 \pm 0,10/10,00$ EBC e $10,516 \pm 0,001/11,000$ IBU.

Quanto ao teor alcoólico, a legislação brasileira (BRASIL, 2009) determina que “cerveja sem álcool” é aquela que possui concentração de álcool $\leq 0,5$ %v/v, não havendo necessidade de constar no rótulo do produto essa informação. Enquanto que “cerveja com álcool” é aquela que possui concentração superior a 0,5 %v/v, havendo obrigatoriedade em apresentar esse dado na embalagem. Neste sentido, as amostras analisadas estão situadas na faixa de 0,00 (L5 e P8) a 5,00 %v/v (PPM e PPM SC), sendo 02 classificadas como cervejas sem álcool (L5 e P8), enquanto as demais são cervejas com álcool.

Uma comparação entre o teor alcoólico experimental/rótulo das bebidas industriais mostra que as cervejas G6 ($4,50 \pm 0,10/4,6$) %v/v, J7 ($4,70 \pm 0,05/4,70$) %v/v,

L5 ($0,00 \pm 0,00/0,00$) %v/v, N5 ($4,50 \pm 0,10/4,5$) %v/v e P8 ($0,00 \pm 0,00/0,00$) %v/v apresentaram igualdade, dentro do desvio padrão, entre esses valores. Enquanto que para as demais amostras industriais observa-se discrepância, considerando o desvio padrão, entre o teor experimental/rótulo. Maiores distinções foram observadas para as bebidas E4 ($4,10 \pm 0,05/5,00$) %v/v, H2 ($3,80 \pm 0,10/4,70$) %v/v, I2 ($4,00 \pm 0,10/4,80$) %v/v, R2 ($4,40 \pm 0,10/5,50$) %v/v e S10 ($3,90 \pm 0,10/4,80$) %v/v.

Destacamos que no preparo das amostras artesanais, objetivou-se a obtenção de bebidas com teor alcoólico igual a 4,80 %v/v (Tabela 11). Os resultados apresentados na Tabela 12 indicam maior eficiência na fermentação quando utilizado exclusivamente malte de cevada na mostura, PPM e PPM SC, resultando em bebidas com maior teor alcoólico, respectivamente, ($5,00 \pm 0,05$) %v/v e ($5,00 \pm 0,08$) %v/v.

Os resultados apontam para uma redução no rendimento alcoólico em função do aumento na concentração (%m/m) de adjuntos (milho e arroz) durante a mostura (Tabela 12). Nas cervejas P15M, P30M e P45M, produzidas com milho, quando comparada a cerveja puro malte (PPM), observa-se redução no teor alcoólico da bebida obtendo valores de, respectivamente, ($4,90 \pm 0,02$), ($4,80 \pm 0,30$) e ($4,60 \pm 0,02$) %v/v. Nota-se ainda uma redução mais acentuada na concentração alcoólica quando utilizado o arroz como adjunto, visto que as amostras P15A, P30A e P45A, apresentaram teores alcoólicos com valores iguais a ($4,90 \pm 0,02$), ($4,10 \pm 0,05$) e ($3,40 \pm 0,10$) %v/v, respectivamente.

Uma possível explicação para a redução no teor alcoólico em função do aumento na concentração de adjuntos pode estar associada à importância do malte de cevada durante a mostura. O malte de cevada possui enzimas (α -amilase e β -amilase) que atuam na conversão do amido presente no cereal em açúcares fermentáveis e solúveis em água, os quais são convertidos pelas leveduras durante a fermentação em, basicamente, gás carbônico e etanol. A menor concentração de malte pode resultar numa redução de enzimas no mosto e, por consequência, na quantidade de açúcares fermentáveis disponíveis para as leveduras (FINCHER, 1989; MEUSSDOERFFER, 2009; MORADO, 2017). Além disso, considerando uma porção de 100g de cada cereal, o milho possui maior quantidade de carboidratos (86,3g) frente ao arroz (79,7g) (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2020), fator que também pode ter influenciado na menor formação de álcool nas cervejas produzidas com esse

adjunto (P15A, P30A e P45A).

Adicionalmente, duas amostras de cervejas artesanais foram carbonatadas com sacarose na concentração de 10 g/L, sendo uma puro malte (PPM SC) e uma com 15% m/m de milho como adjunto (P15M SC). A utilização de sacarose na carbonatação dessas bebidas, em substituição ao extrato de malte, foi realizada com intuito de verificar possíveis alterações nas propriedades físico-química da bebida, visto que a carbonatação com sacarose é uma técnica comumente utilizada por cervejeiros artesanais devido ao fácil acesso a sacarose em supermercados (açúcar cristal) e ao menor preço quando comparado a outras técnicas.

Foi observado que as cervejas carbonatadas com sacarose, PPM SC e P15M SC, quando comparada às amostras carbonatadas com extrato de malte, não apresentaram alterações nos valores obtidos para teor alcoólico, mantidos, respectivamente, em 5,00 e 4,90 %v/v. Contudo, mantendo tal parâmetro de comparação, foi observado aumento no pH e densidade e redução na intensidade de cor, amargor, e acidez total.

As cervejas estudadas, apresentam valor de densidade, a 20 °C, pouco superior à da água, possivelmente devido a presença de açúcares residuais e outros compostos orgânicos dissolvidos na bebida. Nota-se que, dentre as amostras analisadas, as cervejas 0,00% v/v de álcool (L5 e P8) são as que têm maior valor de densidade, respectivamente, 1,0252 e 1,0195 g/mL. O etanol, álcool característico da bebida, possui densidade de 0,7890 g/mL a 20 °C, inferior à da água da mesma temperatura (0,9982 g/mL). Desta forma, a ausência do etanol pode ter colaborado para o aumento na densidade da bebida.

Na avaliação da densidade, a 20 °C, nota-se que, dentre as amostras analisadas, as cervejas 0,00% v/v álcool são as que têm maior valor medido 1,0252 (L5) e 1,0195 g/mL (P8). O etanol, álcool característico da cerveja, possui densidade de 0,7890 g/mL a 20 °C, inferior à da água da mesma temperatura (0,9982 g/mL). Desta forma, a ausência do etanol pode ter colaborado para o aumento na densidade dessas bebidas. Além do etanol, outros compostos dissolvidos no líquido podem influenciar na densidade da cerveja. Para as amostras selecionadas no estudo, todas apresentaram densidade, a 20 °C, superior à da água, possivelmente devido a

presença de açúcares residuais e outros compostos orgânicos dissolvidos na bebida.

4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho

As análises dos espectros de infravermelho médio (IVM) foram realizadas a partir dos espectros médios (triplicata) das 30 amostras de cervejas selecionadas e produzidas para o estudo (industriais e artesanais), conforme ilustrado na Figura 30. Nela, foram observadas absorções importantes em 3320 e 1640 cm^{-1} , as quais, devido à composição majoritária das amostras, podem ser atribuídas, respectivamente, a sobreposição de estiramentos da ligação O–H e alongamentos H–O–H da água (DUARTE et al., 2004).

Na região de impressão digital (Figura 30), abaixo de 1500 cm^{-1} , foram observadas vibrações de baixa intensidade que podem ser associadas às ligações C–C e C–H que podem estar associadas aos carboidratos. Além disso, são observadas bandas em 1050-1040 e 875-865 cm^{-1} , que podem ser atribuídas à ligação C–O de álcool primário, característico do etanol. (DUARTE et al., 2004). Nas cervejas industriais zero álcool (L5 e P8), como esperado, não foram observadas essas bandas. Para além disso, na análise visual do espectro MIR, não foi verificada diferenciação composicional entre cervejas industriais e artesanais, nem tampouco entre bebidas puro malte e com adjuntos.

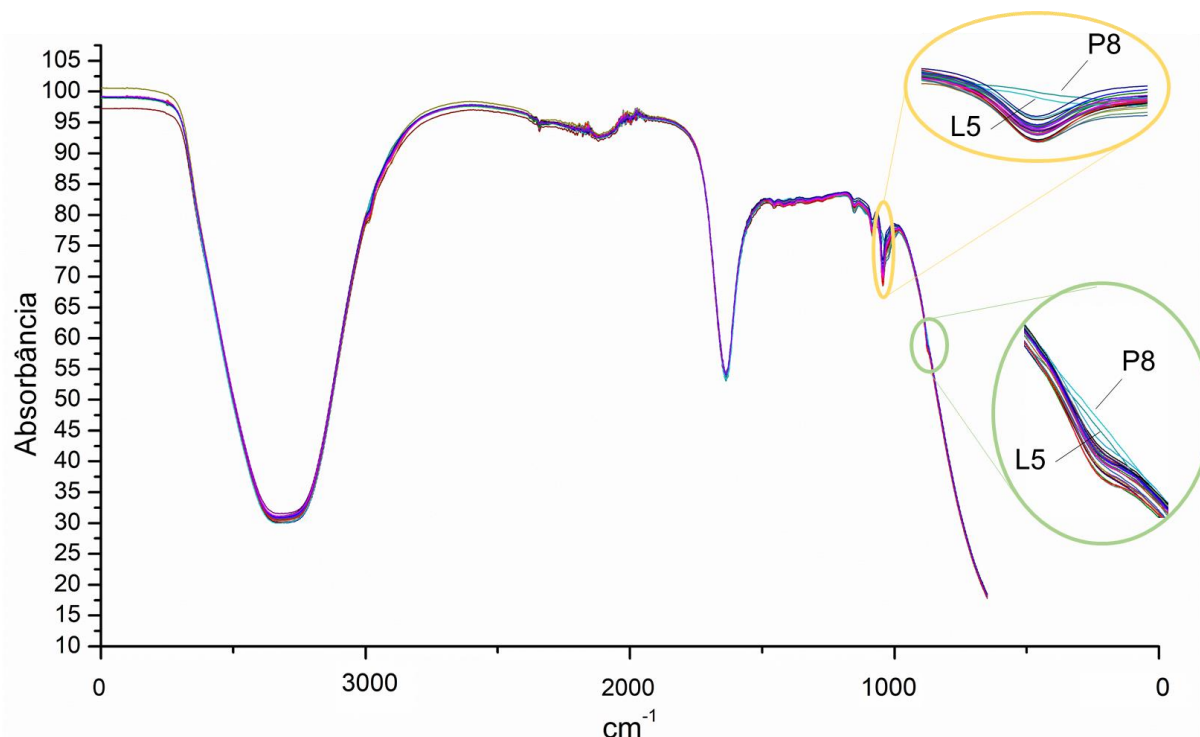


Figura 30. Espectros IVM (4000 a 650cm⁻¹) das amostras de cervejas analisadas. Destaque para as bandas em 1050-1040 cm⁻¹ (Amarelo) e 875-865 cm⁻¹ (Verde).

Na Figura 31 são apresentados os espectros (IVP), sobrepostos, das trinta amostras de cervejas estudadas, nos quais é possível observar bandas em 6880 e 5115 cm⁻¹, associadas podem ser associadas a presença de água, componente majoritário da bebida.

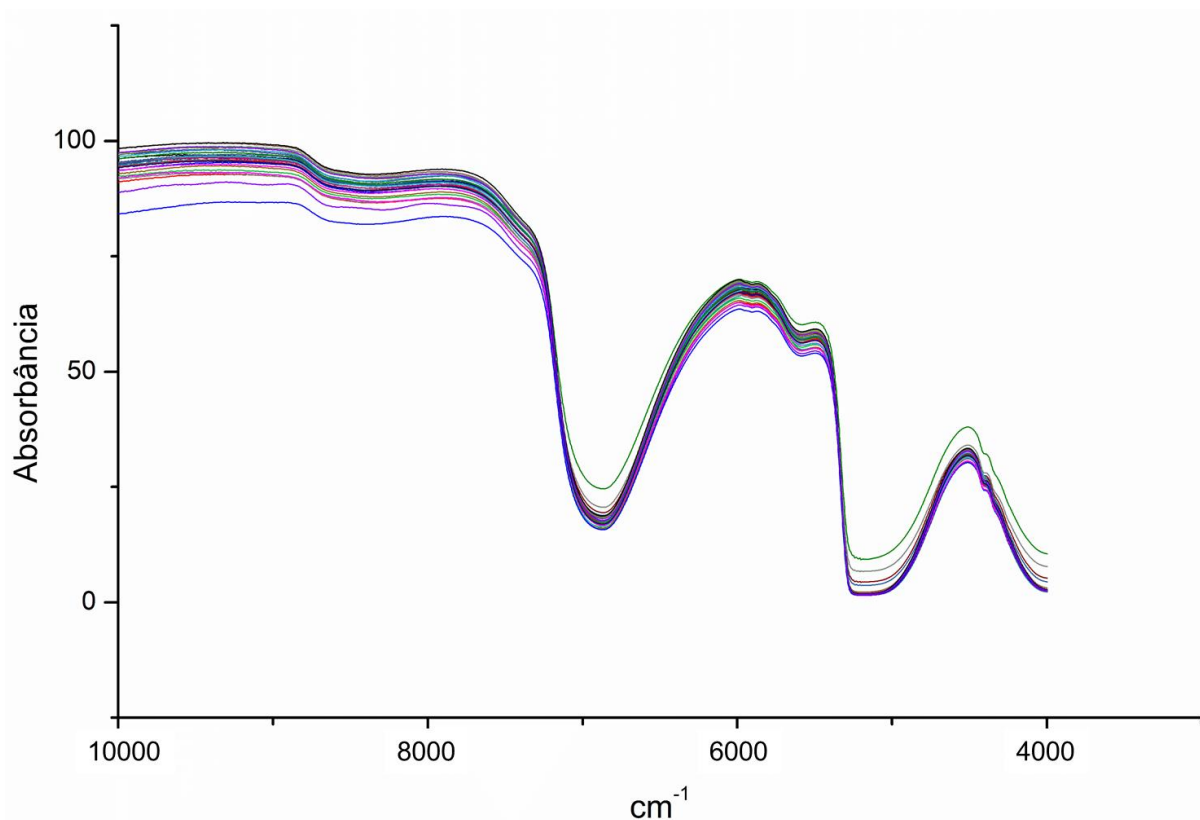


Figura 31. Espectros IVP, 10000 a 4000 cm^{-1} , sobrepostos das trinta amostras de cervejas analisadas.

4.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Para as análises de RMN ^1H foram obtidos espectros com e sem supressão do sinal dos hidrogênios atribuídos a presença de água (δ_{H} de 4,64 ppm). A supressão do sinal a δ_{H} 4,64 ppm possibilitou melhor visualização de diversos sinais de menor intensidade, em especial, na região dos alifáticos (δ_{H} 0 a δ_{H} 5,8 ppm). Por esse motivo, apenas os espectros com supressão em δ_{H} 4,64 ppm foram avaliados no presente trabalho.

Nas amostras de cervejas com álcool (Figura 32.A) verifica-se, como esperado, a presença dos sinais a δ_{H} 1,03 ppm (triplete) e δ_{H} 3,5 ppm (quadruplete) característicos dos hidrogênios metílicos e metilênicos do etanol, respectivamente. Esses sinais apresentam-se com maior intensidade nas amostras, visto que o etanol, após a água, é o componente de maior concentração nessas bebidas (DUARTE et al., 2004). Além disso, foi observado um dubleto a δ_{H} 1,32 ppm que foi atribuído ao hidrogênio metílico da alanina e, devido a sobreposição de sinais na região de 3 a 4 ppm, não foi possível identificar o sinal referente ao hidrogênio metínico (singlete a δ_{H} 3,77 ppm), compostos que também observados nos estudos realizados por Almeida e

colaboradores (ALMEIDA et al., 2006), Rodrigues e colaboradores (RODRIGUES et al., 2011) e Duarte e colaboradores (DUARTE et al., 2002, 2003, 2004).

Nas análises realizadas para as cervejas sem álcool (L5 e P8), Figura 32.B, não foram observados sinais relacionados ao etanol (δ_H 1,03 ppm e δ_H 3,50 ppm) e a alanina (δ_H 1,32 ppm). Porém, foi observado um dubleto a δ_H 0,95 ppm e um singlete a δ_H 2,20 ppm, característico do hidrogênio metílico e da hidroxila do propanol, assim como um dubleto a δ_H 1,17 ppm característicos dos hidrogênios metílicos do isopropanol. Esses resultados corroboram com aqueles presentes na literatura científica (DUARTE et al., 2004; FERREIRA; GUIDO, 2018; RODRIGUES et al., 2011), os quais indicam a existência de propanol e isopropanol (álcoois superiores) em cervejas não alcoólicas. Cabe destacar que, em nossas análises, devido a sobreposição de sinais nessa região, não foi possível atribuir com precisão sinais que podem ser atribuídos aos álcoois superiores em cervejas com álcool.

Em todo o universo de amostras selecionadas para o presente estudo, foram observados sinais que podem ser atribuídos a ácidos orgânicos, sendo eles produtos da fermentação alcoólica por leveduras, durante a produção de cerveja. A δ_H 2,42 ppm foi observado um singlete que foi atribuído aos hidrogênios metilênicos do ácido succínico. Além disso, a δ_H 1,32 ppm ($J = 6,92$ Hz) foi identificado um dubleto associado ao hidrogênio metílico do ácido láctico. Por fim, a δ_H 1,87 ppm foi observado um singlete atribuído ao hidrogênio metílico do ácido acético (DUARTE et al., 2002, 2003; GUTIERREZ, 1988).

Ainda foram identificados um dubleto a δ_H 7,27 ppm ($J = 7,32$ Hz) que pode ser associado a um dos sinais da fenilalanina. Atribuídos ao tirosol (derivado do álcool fenetílico) foram identificados dubletos AB a δ_H 6,74 ppm ($J = 8,44$ Hz) e δ_H 7,04 ppm ($J = 8,64$ Hz), referentes aos hidrogênios aromáticos, e um tripleto a δ_H 3,11 ppm referente ao hidrogênio metilênico ($J = 6,92$ Hz).

A região entre δ_H 3-6 ppm é relacionada a sinais de hidrogênios carbinólicos de carboidratos e de alguns álcoois. Contudo, nos espectros obtidos (Figura 32), a presença de sinais sobrepostos nessa região impossibilitou a distinção e atribuição da maioria dos sinais. Desta forma, foi possível identificar apenas um dubleto a δ_H 5,08 ppm ($J = 3,64$ Hz) característico de hidrogênio anomérico, com acoplamento

equatorial-axial, indicativo de açúcar com configuração α .

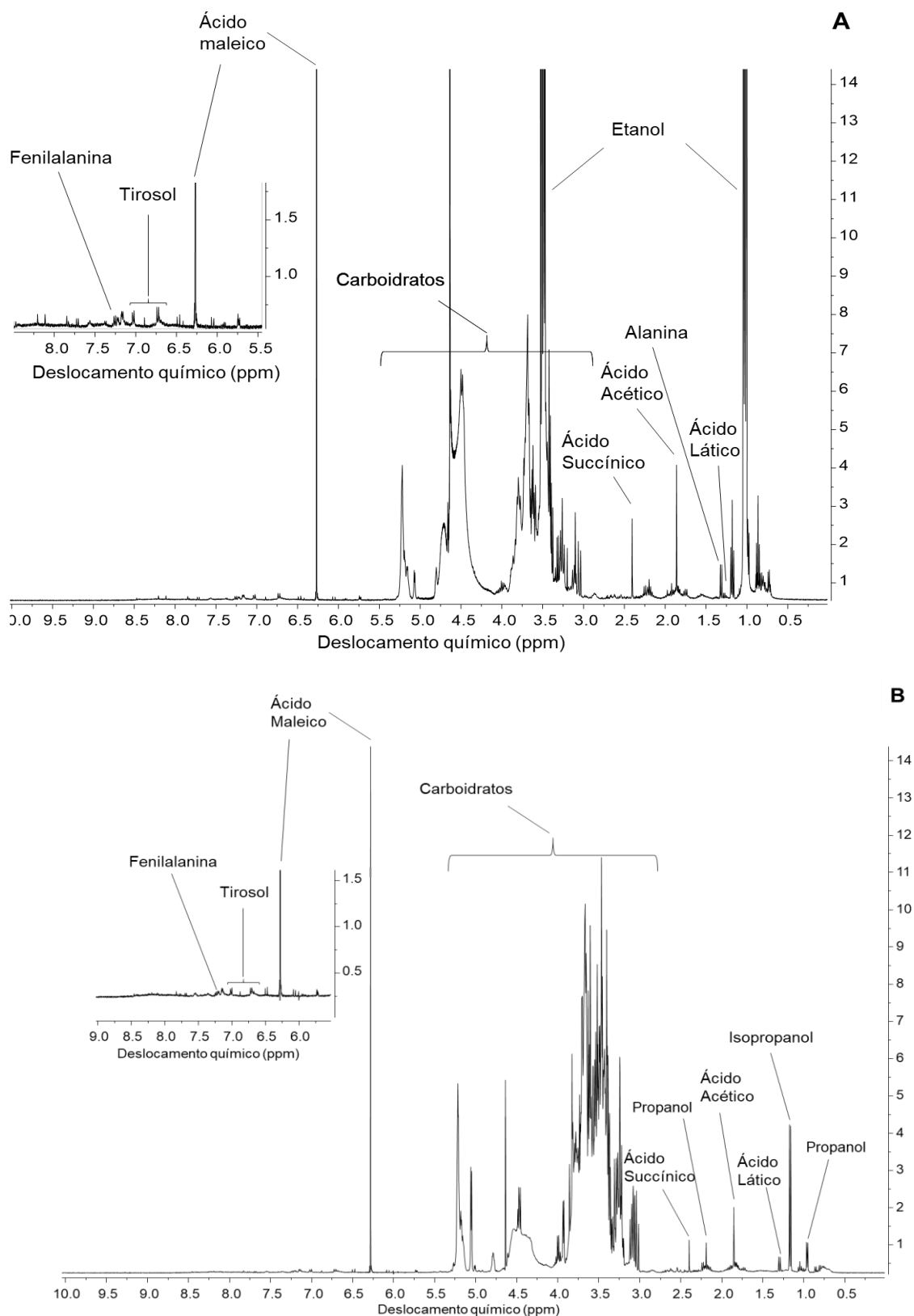


Figura 32. Espectros de RMN ^1H com destaque aos compostos característicos presentes nas amostras de cervejas estudadas. (A) Cerveja com álcool – Amostra A1. (B) Cerveja sem álcool – Amostra L5.

4.4. Espectrometria de Massas

ESI(+)/FT-ICR MS

A análise dos espectros ESI(+)/FT-ICR MS (Figura 33), permitiu a identificação de cátions (Tabela 13) que são característicos às amostras analisadas, possibilitando a distinção entre as bebidas industriais e artesanais. Os íons foram atribuídos a moléculas protonadas ($[M+H]^+$), adutos de sódio ($[M+Na]^+$) e de potássio ($[M+K]^+$), conforme apresentado na Tabela 13 e ilustrado na Figura 33.

Em todos os espectros foram observados sinais atribuídos aos cátions de malto-oligossacarídeos na forma de adutos de sódio e potássio (Tabela 13 e Figura 33). Esses carboidratos derivam da hidrólise do amido presente nos cereais durante a mostura dos grãos, indicando que as leveduras não consumiram todos os açúcares durante a fermentação e a maturação da bebida. Para todas as amostras foram observados sinais de menor intensidade relacionados à presença de glucose (m/z 219 $[M+K]^+$), maltose/sacarose (m/z 365 $[M+Na]^+$ e m/z 381 $[M+K]^+$), maltotriose (m/z 543 $[M+K]^+$), maltotetraose (m/z 705 $[M+K]^+$) e maltopentaose (m/z 867 $[M+K]^+$). Os sinais atribuídos a esses açúcares já foram descritos em outros estudos presentes na literatura científica (ARAÚJO et al., 2005; DU et al., 2015; PEREIRA et al., 2016), corroborando com os resultados apresentados em nossa pesquisa.

Nas amostras artesanais (com exceção de PPM SC e P15M SC) foram identificados sinais de maior intensidade relacionados a compostos derivados da frutose (m/z 673 $[M+Na]^+$) e galactose/manose (m/z 697 $[M+Na]^+$). É importante destacar que nessas amostras também foram identificados sinais atribuídos ao inostamycin B (m/z 709 $[M+Na]^+$), isolado originalmente da bactéria *Streptomyces sp.* MH816- AF1542, (BONJAR et al., 2004; ODAI et al., 1994) e ao TMC-151C (m/z 797 $[M+Na]^+$), isolado inicialmente do fungo *Gliocladium catenulatum*, (KOHNO et al., 1999; MATSUI et al., 2011) ambos os compostos com atividade antibiótica. Em nossa busca na literatura científica, esse é o primeiro relato da presença desses compostos em cervejas e, possivelmente, reflete a contribuição do método de cultivo dos grãos utilizados na produção da bebida (malte de cevada e/ou extrato de malte, visto que a *Streptomyces sp* e a *Gliocladium catenulatum* podem ser empregadas no controle de patógenos característicos em cultivares de milho, cevada, trigo, etc. (BETTIOL et al.,

2012; BRESSAN et al., 2003)

Além de açúcares, durante a etapa de fermentação, as leveduras demandam em seu metabolismo compostos nitrogenados, sendo suas principais fontes os aminoácidos, proteínas e peptídeos (HEGGART et al., 1999; HE et al., 2014). Os compostos nitrogenados estão presentes em quantidades satisfatórias no malte de cevada, os quais são solubilizados no mosto durante a hidrólise dos carboidratos (FERREIRA; GUIDO, 2018; HERRERA-GAMBOA et al., 2018). A presença de amino álcoois, purinas e pirimidinas em cervejas é esperada, visto que são metabólitos das leveduras, enquanto que ao final da fermentação, estima-se que sejam exauridos a maioria dos aminoácidos e proteínas, restando apenas a prolina (BETTENHAUSEN et al., 2018; FERREIRA; GUIDO, 2018; KLAMPFL et al., 2002).

Os sinais identificados, apresentados na Tabela 13 e Figura 33, mostram que os sinais $[M+H]^+$ de maior intensidade podem estar associados, a amino álcoois (m/z 218, 230, 246, 262, 362, 386 e 406 $[M+H]^+$), purinas (m/z 268, 369 e 401 $[M+H]^+$), pirimidinas (m/z 317 e 785 $[M+H]^+$), esfingolipídios (m/z 274 e 318 $[M+H]^+$) piperazinas (m/z 397 e 445 $[M+H]^+$), proteínas (m/z 477, 497, 521, 533, 609, 629, 653, 853 e 1077 $[M+H]^+$) e aminoácidos (m/z 391, 440, 532, 541, 570, 635, 663, 756 e 798 $[M+H]^+$) (CHEIRAN et al., 2019; FERREIRA; GUIDO, 2018; HAZRA; HOSSAIN; SURESH KUMAR, 2013; KLAMPFL et al., 2002; KONG et al., 2016; MURAKAMI et al., 2011; WANNENMACHER; GASTL; BECKER, 2018). Neste contexto, destaca-se a maior quantidade e intensidade de sinais atribuídos a aminoácidos e proteínas nas cervejas artesanais (Figura 33.B), com exceção de PPM SC e P15M SC, as quais possuem perfil semelhante às cervejas industriais (Figura 33.A). Considerando que todas as cervejas artesanais seguiram as mesmas condições durante sua produção, uma possível explicação para a semelhança entre o perfil químico das amostras PPM SC e P15M SC com o das amostras industriais pode estar relacionada à sua carbonatação. Pois ambas as amostras foram carbonatadas por refermentação com adição de sacarose. Nesse processo, as leveduras consomem o açúcar adicionado, gaseificando a bebida, e junto a ele os compostos nitrogenados ainda presentes na bebida. Enquanto as demais amostras artesanais foram carbonatadas por refermentação com adição de extrato de malte, proporcionando a essas leveduras quantidade extra de açúcares, mas também de compostos nitrogenados naturalmente presentes no malte.

Em geral, os processos produtivos industriais buscam maior eficiência no menor tempo possível. Possivelmente, as bebidas das cervejarias indústrias utilizam meios produtivos que visam acelerar o processo de fermentação buscando alta eficiência na conversão dos açúcares presentes no mosto, resultando também em bebidas com menor presença de aminoácidos e proteínas. É importante destacar que a maior presença de proteínas e aminoácidos resulta em bebidas com melhor qualidade nutricional (BAMFORTH, 2004; GERHÄUSER, 2005; KAPLAN; PALMER; DENKE, 2000; KONDO, 2008).

Em adicional, foi observado no espectro das amostras A1, B2 e U7, sinal que foi atribuído ao Piriminobac (m/z 348 $[M+H]^+$), um éter aromático que possui ação herbicida e que pode ser utilizado no controle de vegetações indesejáveis. Sua aplicação, assim como sua estrutura metilada (Piriminobac-metil), é relatada em plantações de cereais para consumo humano, tais como a cevada, milho, arroz, cana-de-açúcar, etc. A presença do Piriminobac em cervejas aponta para a persistência desse herbicida, mesmo quando submetido ao ciclo industrial da bebida (CORET, 2008; CROPLIFE INTERNATIONAL, 2012; EVANGELISTA et al., 2005; KYOTO ENCYCLOPEDIA OF GENES AND GENOMES, 2020). Ressalta-se que, em nas análises realizadas, foi avaliado apenas um lote de cada bebida, indicando a necessidade de avaliações posteriores acerca da presença desse composto em outros lotes dos rótulos citados, visto que esse pode ser um resultado pontual.

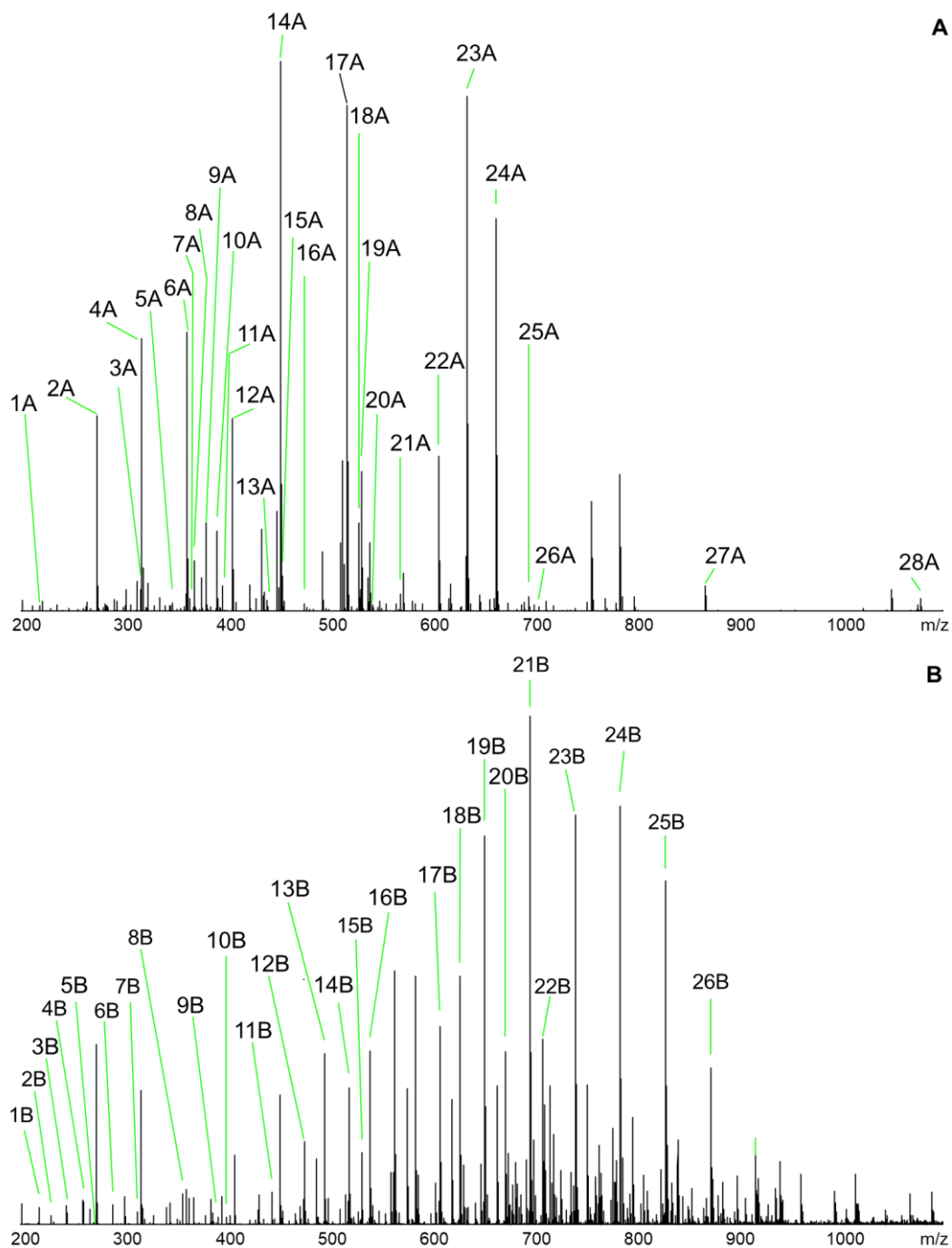


Figura 33. Espectros de impressão digital ESI(+)-FT-ICR MS representativos das amostras de cervejas industriais (A) e cervejas artesanais (B). Sinais identificados na Tabela 13.

Tabela 13. Resumo dos principais íons detectados no ESI(+)-FT-ICR MS. Cervejas Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA). *Inclui PPM SC e P15M SC. †Exceto PPM SC e P15M SC.

Nº	m/z	Forma do sinal	Estrutura proposta	PMI*	ADI†	PMA†	ADA†
1B	218,21	$[C_{12}H_{27}NO_2+H]^+$	2-[2-hidroxietil(octil)amino]etanol			X	X
1A	219,03	$[C_6H_{12}O_6+K]^+$	Glicose	X	X		
2B	230,24	$[C_{14}H_{31}NO+H]^+$	2-(Dodecilamino)etanol			X	
3B	246,24	$[C_{14}H_{31}NO_2+H]^+$	1-[2-hidroxipropil(octil)amino]propan-2-ol			X	X
4B	262,23	$[C_{14}H_{31}NO_3+H]^+$	2-[Bis(3-metilbutil)amino]-2-(hidroxilmetil)propan)-1,3-diol			X	X
5B	268,10	$[C_{10}H_{13}N_5O_4+H]^+$	Adenosina ou Vidarabina			X	
2A	274,27	$[C_{16}H_{35}NO_2+H]^+$	Hexadecasfinganina	X	X	X	X
6B	290,26	$[C_{16}H_{35}N_3+H]^+$	3-((2-hidroxildodecil)metilamina)propano-1,2-diol	X	X	X	X
7B	314,24	$[C_{20}H_{44}NO+H]^+$	N-decildecan-1-amina	X	X	X	X
3A	317,12	$[C_{17}H_{12}N_6O+H]^+$	Pirimidinas	X	X		X
4A	318,30	$[C_{18}H_{39}NO_3+H]^+$	Fitosfingosina	X	X	X	X
5A	348,12	$[C_{16}H_{17}N_3O_6+H]^+$	Piriminobac				
8B	358,36	$[C_{22}H_{47}NO_2+H]^+$	Estearildietanolamina			X	X
6A	362,33	$[C_{20}H_{43}NO_4+H]^+$	Amino álcoois	X	X	X	X
7A	365,11	$[C_{12}H_{22}O_{11}+Na]^+$	Maltose/sacarose	X	X	X	X
8A	369,20	$[C_{19}H_{24}N_6O_2+H]^+$	Purinas	X	X	X	X
9A	381,08	$[C_{12}H_{22}O_{11}+K]^+$	Maltose/sacarose	X	X	X	X
9B	386,39	$[C_{24}H_{51}NO_2+H]^+$	1-[2-hidroxipropil(octadecil)amino]propan-2-ol			X	X
10A	391,35	$[C_{21}H_{46}N_2O_4+H]^+$	β-alanina	X	X	X	X
11A	397,27	$[C_{22}H_{32}N_6O+H]^+$	Piperazinas	X	X	X	X
10B	401,26	$[C_{21}H_{32}N_6O_2+H]^+$	Purinas			X	X
12A	406,35	$[C_{22}H_{47}NO_5+H]^+$	Aminopentol	X	X		
13A	440,25	$[C_{20}H_{34}N_5O_6+H]^+$	Aminoácidos	X	X	X	X
11B	445,29	$[C_{23}H_{36}N_6O_3+H]^+$	Piperazinas			X	X
14A	453,13	$[C_{25}H_{20}N_6O_3+H]^+$	Quinoxalinas	X	X	X	X

Tabela 13. Continuação.

N°	m/z	Forma do sinal	Estrutura proposta	P M I *	A D I I	P M A	A D A γ
15A	455,17	[C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O ₁₀ +H] ⁺	Diaminofenil Glicosilado	X	X	X	X
16A	476,26	[C ₂₆ H ₃₇ NO ₇ +H] ⁺	Derivado do Orto-catecol	X	X	X	X
12B	477,28	[C ₂₃ H ₃₆ N ₆ O ₅ +H] ⁺	Proteína derivada da L-alanina, L-tirosina, L-leucina ou norvalina			X	X
13B	497,23	[C ₂₁ H ₃₂ N ₆ O ₈ +H] ⁺	Proteína derivada da L-histidina ou L-prolina			X	X
17A	518,31	[C ₂₉ H ₄₃ NO ₇ +H] ⁺	Estrofantina-3-dimetilamino acetato	X	X		
14B	521,30	[C ₂₅ H ₄₀ N ₆ O ₆ +H] ⁺	Proteína derivada da L-alanina ou L-leucina.			X	X
18A	530,27	[C ₂₉ H ₃₉ NO ₈ +H] ⁺	Ésteres	X	X	X	X
19A	532,29	[C ₂₉ H ₄₁ NO ₈ +H] ⁺	Aminoácidos	X	X	X	X
15B	533,34	[C ₂₇ H ₄₄ N ₆ O ₅ +H] ⁺	Proteína derivada da L-prolina ou L-leucina.			X	X
16B	541,26	[C ₂₃ H ₃₆ N ₆ O ₉ +H] ⁺	Proteína derivada da L-fenilalanina			X	X
20A	543,13	[C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆ +K] ⁺	Maltotriose	X	X	X	X
21A	570,25	[C ₃₀ H ₃₁ N ₇ O ₅ +H] ⁺	Derivados da norleucina e glutamina	X	X	X	X
22A	607,47	[C ₃₆ H ₅₈ N ₆ O ₂ +H] ⁺	Isoquinolinas	X	X	X	X
17B	609,36	[C ₂₉ H ₄₈ N ₆ O ₈ +H] ⁺	Proteínas derivadas da L-lisina, L-iso-leucina ou L-leucina.			X	X
18B	629,31	[C ₂₇ H ₄₄ N ₆ O ₁₁ +H] ⁺	L-Alanil-L-leucil-L-α-glutamil-L-α-glutamil-D-prolil-L-alanina			X	X
23A	635,50	[C ₃₈ H ₆₂ N ₆ O ₂ +H] ⁺	Aminoácidos	X	X	X	X
19B	653,38	C ₃₂ H ₄₈ N ₁₀ O ₅	Proteínas derivadas da β-alanina, L-valina e L-norleucina			X	X
24A	663,53	[C ₄₀ H ₆₆ N ₆ O ₂ +H] ⁺	Derivado da L-lisina	X	X	X	X
20B	673,34	[C ₃₁ H ₅₄ O ₁₄ + Na] ⁺	Frutooligossacarídeos			X	X
25A	695,39	[C ₄₀ H ₅₀ N ₆ O ₅ +H] ⁺	Derivados de Carbamato de benzila	X	X		
21B	697,41	[C ₃₅ H ₆₂ O ₁₂ +Na] ⁺	Oligossacarídeo derivado da galactose/manose			X	X
22B	709,45	[C ₃₇ H ₆₆ O ₁₁ +Na] ⁺	Inostamycin B			X	X
26A	705,64	[C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁ +K] ⁺	Maltotetraose	X	X	X	X

Tabela 13. Continuação.

Nº	<i>m/z</i>	Forma do sinal	Estrutura proposta	P M I *	A D I	P M A	A D A Y
23B	741,44	[C ₃₆ H ₅₆ N ₁₀ O ₇ +H] ⁺	Proteínas				X X
24B	785,46	[C ₃₇ H ₆₅ N ₆ O ₁₂ +H] ⁺	Nucleosídeos de pirimidinas				X X
25B	797,50	[C ₄₁ H ₇₄ O ₁₅ +Na] ⁺	TMC-151C				X X
27A	867,37	[C ₃₀ H ₅₂ O ₂₆ + K] ⁺	Maltopentaose	X	X	X	X
26B	853,21	[C ₄₂ H ₆₈ N ₁₀ O ₁₀ +H] ⁺	Proteína (L-Lisil-L-leucil-L-tirosil-L-histidil-L-leucil-L-seril-L-isoleucina)				X X
28A	1077,74	[C ₄₉ H ₉₂ N ₁₈ O ₉ +H] ⁺	Proteínas derivadas da norleucina, leucina, lisina e prolina	X	X	X	X

ESI(-)FT-ICR MS

A Figura 34 ilustra os espectros típicos obtidos para as cervejas industriais (Figura 34.A) e as artesanais (Figura 34.B), tendo o resumo dos principais íons detectados apresentados na Tabela 14. Nos espectros das 30 amostras foram observados sinais atribuídos aos ânions presentes na bebida, os quais foram associados às moléculas em suas formas desprotonadas ([M-H]⁻) e também a adutos de cloreto ([M-Cl]⁻) no padrão isotópico típico ³⁵Cl e ³⁷Cl (ARAÚJO et al., 2005).

Os resultados obtidos pelo emprego do ESI(-) corroboram com aqueles apresentados no ESI(+). Em todas as amostras foram observados sinais associados a presença de açúcares, sendo os ânions *m/z* 161, 179 e 191 atribuídos, respectivamente, às formas [M-H]⁻ da 1,6-anidro-β-D-glicose, glicose e D-glucaro-1,4-lactona. Enquanto os os pares de ânions *m/z* 215/217, 377/379 e 549/541 foram relacionados, respectivamente, a [M-Cl]⁻ da glicose, maltose e maltotriose.

O emprego do ESI(-) possibilitou a identificação de compostos característicos da cerveja, complementando os resultados do ESI(+). Em todas as bebidas foram identificados os ânions *m/z* 347 e 361, atribuídos às formas desprotonadas da humulona e seus isômeros. Esses compostos derivam do lúpulo e são responsáveis pelo amargor da cerveja, além de contribuir no aroma, estabilização e conservação

da bebida.

A análise dos dados apresentados na Figura 34 e na Tabela 14 apontam para uma predominância de sinais relacionados a açúcares nas bebidas comerciais, enquanto que nas cervejas artesanais analisadas há a predominância de ésteres, ácidos carboxílicos e outros compostos que contribuem positivamente para o aroma da bebida.

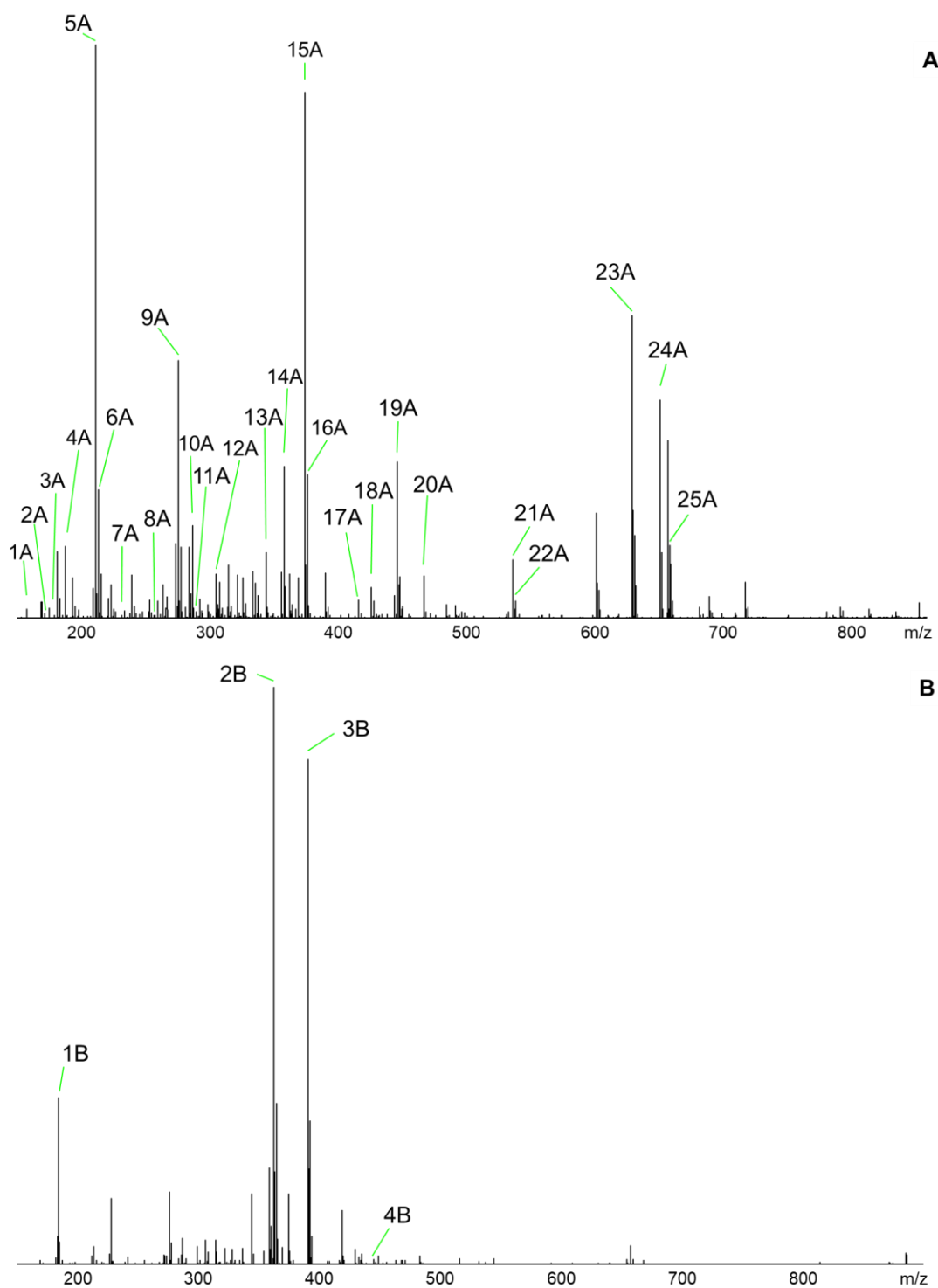


Figura 34. Espectros de impressão digital ESI(-)FT-ICR MS representativos das amostras de cervejas industriais (A) e cervejas artesanais (B). Sinais identificados na Tabela 14.

Tabela 14. Resumo dos principais íons detectados no ESI(-)FT-ICR MS. Cervejas Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA). *Inclui PPM SC e P15M SC. †Exceto PPM SC e P15M SC.

Nº	m/z	Forma do sinal	Estrutura proposta	P M I *	A D I	P M A	A D A †
1A	161,04	[C ₆ H ₁₀ O ₅ -H] ⁻	1,6-Anidro-β -D-glicose	X	X		
2A	169,01	[C ₇ H ₅ O ₅ -H] ⁻	Ácido Gálico	X	X		
3A	179,05	[C ₆ H ₁₂ O ₆ -H] ⁻	Glicose	X	X		
1B	188,03	[C ₁₀ H ₇ NO ₃ -H] ⁻	Ácido 3-hidroxiquinolina-4-carboxílico			X	X
4A	191,01	[C ₆ H ₈ O ₇ -H] ⁻	D-Glucaro-1,4-lactona	X	X	X	X
5A	215,03	[C ₆ H ₁₂ O ₆ +Cl] ⁻	Glicose	X	X	X	X
6A	217,03	[C ₆ H ₁₂ O ₆ +Cl] ⁻	Glicose	X	X	X	X
7A	233,10	[C ₁₀ H ₁₇ O ₆ -H] ⁻	Diisopropil D-tartarato			X	X
8A	271, 05	[C ₁₁ H ₈ N ₆ O ₃ -H] ⁻	8-(p-nitrofenil)guanina			X	
9A	279, 03	[C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆ +Cl] ⁻	Uridina	X	X	X	X
10A	290,08	[C ₁₁ H ₁₇ NO ₈ -H] ⁻	D-glicose-6-[(2S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilato]	X	X	X	X
11A	293,05	[C ₁₇ H ₂₆ O ₄ -H] ⁻	Gingerol			X	X
12A	308,09	[C ₁₁ H ₁₉ NO ₉ -H] ⁻	Ácido 9-O-acetilneuramínico	X	X		
13A	347,18	[C ₂₀ H ₂₈ O ₅ -H] ⁻	Isocohumulona	X	X	X	X
14A	361,20	[C ₂₁ H ₃₀ O ₅ -H] ⁻	(+)-cis-isohumulona ou isoadhumulona ou humulona	X	X	X	X
2B	365,25	[C ₁₉ H ₃₈ O ₄ +Cl] ⁻	Ésteres			X	X
15A	377,08	[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ +Cl] ⁻	Maltose	X	X	X	X
16A	379,08	[C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ +Cl] ⁻	Maltose	X	X	X	X
3B	393,27	[C ₂₁ H ₄₂ O ₄ +Cl] ⁻	Ésteres			X	X
17A	422,22	[C ₂₉ H ₄₄ O ₂ -H] ⁻	Fenil éster			X	X
18A	429,12	[C ₁₅ H ₂₆ O ₁₄ -H] ⁻	Ácido 2-O-[α-D-manosil- (1->2 -α-D-Glucosil]-D-glicérico	X	X		
19A	449,17	[C ₂₆ H ₂₂ N ₆ O ₂ -H] ⁻	Piridinas	X	X		
4B	465,33	[C ₃₁ H ₄₅ O ₃ -H] ⁻	Vitamina K epoxidada			X	X
20A	470,15	[C ₁₇ H ₂₉ NO ₁₄ -H] ⁻	α -Neu5Ac-(2->3)-D-Gal	X	X	X	X
21A	539,13	[C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆ +Cl] ⁻	Maltotriose	X	X	X	X
22A	541,13	[C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆ +Cl] ⁻	Maltotriose	X	X	X	X

Tabela 14. Continuação.

Nº	m/z	Forma do sinal	Estrutura proposta	P M I *	A D I	P M A	A D A γ
23A	631,50	[C ₃₇ H ₇₂ O ₅ +Cl] ⁻	Estearato de 2-hidroxi-3-(palmitoiloxi)propil	X	X		
24A	653,30	[C ₂₆ H ₄₂ N ₁₀ O ₁₀ -H] ⁻	Peptídeos	X	X		
25A	659,53	[C ₃₉ H ₇₆ O ₅₆ +Cl] ⁻	1,2-Distearato de (S)glicerilo	X	X		

4.4. Análise quimiométrica

A partir dos dados experimentais obtidos por IVP, IVM, RMN ¹H e ESI(±), foram construídos modelos quimiométricos com intuito de correlacionar os espectros das amostras de cerveja com suas propriedades físico-químicas. A melhor fonte de dados, pré-tratamento, modelo e quantidade de variáveis latentes (VL) para cada propriedade físico-química é apresentada na Tabela 15.

Tabela 15. Modelos aplicados às técnicas analíticas de infravermelho médio (IVM) e próximo (IVP), RMN de ¹H, ESI(+) e ESI(-) segundo os parâmetros de desempenho.

Propriedade	Técnica	Modelo/	Variáveis	N.
Físico-Química	Analítica	Pré-tratamento	Latentes (VL)	Variáveis
Cor (EBC)	IVP	PLS/ MSC	VL1: 52.92% VL2: 84.10% VL3: 90.40% VL4: 93.24% VL5: 94.96%	3.001
Acidez Total (meq/L)	RMN de ¹ H	PLS/ airPLS em conjunto com derivada de segunda ordem com 15 janelas e polinômio de segundo grau	VL1: 61.22% VL2: 82.11%	57.287
pH	ESI(+)FT-ICR MS	PLS/ Normalização e centralização na média	VL1: 32.94% VL2: 51.82% VL3: 58.03%	13.487
Densidade (g/mL)	IVM	SVR/ Derivada de primeira ordem com 9 janelas e polinômio de segundo grau em conjunto com MSC	-	3.350

Tabela 15. Continuação.

Propriedade Físico-Química	Técnica Analítica	Modelo/ Pré-tratamento	Variáveis Latentes (VL)	N. Variáveis
Teor Alcoólico - Fabricante (%Vol)	IVM	PLS/ Derivada de primeira ordem com 9 janelas e polinômio de segundo grau em conjunto com SNV	VL1: 42.95% VL2: 51.66%	3.350
Teor Alcoólico - Experimental (%Vol)	IVM	PLS/ Derivada de primeira ordem com 9 janelas e polinômio de segundo grau	VL1: 42.70% VL2: 49.34% VL3: 58.05%	3.350
Amargor (IBU)	ESI(-)FT-ICR MS	PLS/ Normalização na média	VL1: 27.23% VL2: 41.38% VL3: 50.54%	13.461

Na Tabela 16 são apresentados os resultados dos parâmetros de desempenho e de acurácia (RMSEC e RMSEP), linearidade (coeficiente de determinação, R^2), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), para os modelos que apresentaram melhores resultados (Tabela 15). A correlação entre os valores de concentração experimental e os valores previstos pelos modelos descritos pode ser observado no gráfico da Figura 35.

Tabela 16. Valores dos parâmetros de desempenho dos modelos apresentados na Tabela 15.

Propriedade Físico-Química	RMSEC	RMSEP	R^2_c	R^2_p	LD	LQ
Cor (EBC)	1,0215	1,7954	0,77	0,31	0,2034	0,6779
Acidez Total (meq/L)	4,9077	8,5213	0,31	0,14	0,0483	0,1611
pH	0,061	0,0935	0,88	0,22	0,0167	0,0557
Densidade (g/mL)	0,0016	0,0016	0,92	0,87	-	-
Teor Alcoólico - Fabricante (%Vol)	0,1898	0,3790	0,97	0,98	0,0696	0,2320
Teor Alcoólico - Experimental (%Vol)	0,2430	0,3929	0,96	0,95	0,0991	0,3305
Amargor (IBU)	1,3022	1,6008	0,84	0,61	0,2688	0,8959

Dentre os resultados apresentados nas Tabelas 6, o modelo PLS apresentou melhores métricas para modelagem das propriedades físico-químicas de amargor e

teor alcoólico, enquanto que o modelo SVR obteve melhor métrica para estimativa de densidade das amostras de cerveja. Esses modelos apresentaram percentuais de acerto, acima de 84% na calibração e de 61% no grupo de teste, somados com limites de determinação e quantificação. Já, as propriedades de pH, acidez total e cor, os modelos PLS construídos apresentaram percentuais de acerto superior a 77%, porém inferiores a 31% no grupo de teste. Nota-se que a maioria das propriedades apresentaram boa linearidade, com exceção da propriedade de acidez total.

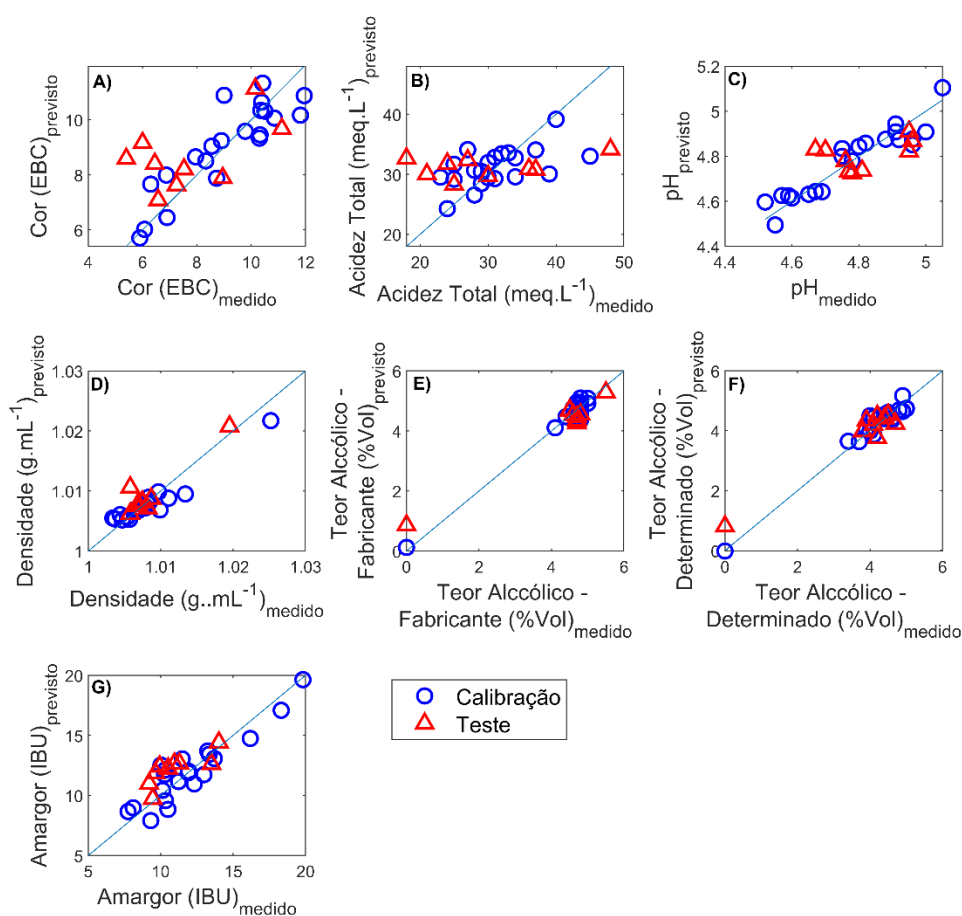


Figura 35. Gráfico de previstos versus medidos de cada regressão apresentada na Tabela 15 para a propriedade (A) Cor, (B) Acidez Total, (C) pH, (D) Densidade, (E) Teor Alcoólico dado pelo Fabricante, (F) Teor Alcoólico Determinado Experimentalmente e (G) Amargor.

Na Figura 36 é apresentado o gráfico de *loadings*, indicando os pesos das VL que mais contribuíram para a construção do modelo, permitindo a melhor correlação entre os espectros das amostras de cerveja com suas propriedades físico-químicas.

Para a estimativa da cor da bebida (EBC) o modelo que apresentou melhor resultado, conforme apresentado na Tabela 15, foi o PLS, pré-tratado com MSC, construídos com dados do MIR. Apesar das 5 VL utilizadas no modelo somarem 94,96% da variância explicada, o mesmo não apresentou boa predição (31%). Ao

analisar seu gráfico de loadings (Figura 36.A), é possível identificar que a região entre 4000 a 7500 apresenta grande relevância nas informações contidas na VL, o que pode ser associado a presença dos sinais de ligação H–O da água, componente majoritário da bebida, de grande intensidade, em que abrange 6880 e 5115 cm^{-1} .

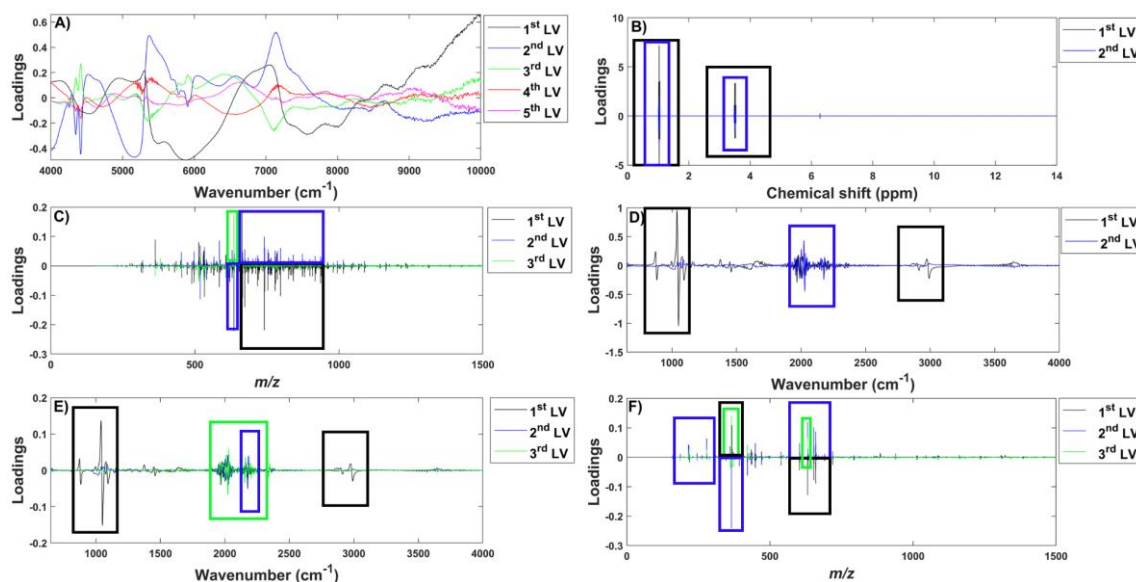


Figura 36. Gráfico de *loadings* para cada VL usada na regressão PLS da propriedade (A) Cor, (B) Acidez Total, (C) pH, (D) Teor Alcoólico dado pelo Fabricante, (E) Teor Alcoólico Determinado e (F) Amargor.

A estimativa dos valores de acidez total ($\text{meq} \cdot \text{L}^{-1}$) teve como melhor resultado o modelo PLS construído com dados de RMN de ^1H , construído com 2 VL que somam 82,11% da variância explicada. Nele foi possível observar que os sinais em 1,03 ppm (triplete) e 3,5 ppm (quadrupeto), característicos dos hidrogênios metílicos e metilênicos do etanol, respectivamente, foram os que mais influenciaram no modelo.

O modelo PLS construído com os dados da ESI(+)-FT-ICR MS, mostrou-se o mais eficaz na estimativa do pH das cervejas. Esse modelo foi desenvolvido com 3 VL somando 58,03% da variância explicada. Os resultados indicam acerto de 88% no conjunto de calibração e desempenho em 22% de linearidade (R^2_p) no conjunto de teste. Para ele é possível observar contribuição de diversos sinais entre 500 e 1000 m/z , que podem ser associados a aminoácidos, proteínas e carboidratos presentes na bebida e que possuem característica ácida.

Os modelos PLS construídos com dados de MIR mostraram o melhor desempenho para estimativa do teor alcoólico das bebidas, considerando tanto os

valores declarados pelos fabricantes, quanto aqueles obtidos experimentalmente, possuindo linearidade maior que 95% para os valores de teste. Na Figura 36.D e 36.E, é possível identificar a contribuição de cada região do espectro na construção do modelo. Nela, destaca-se os sinais abaixo de 1500 cm^{-1} , em especial, as bandas em $1050\text{-}1040$ e $875\text{-}865\text{ cm}^{-1}$ que podem ser atribuídas a ligação C–O de álcool primário, característico do etanol. Além disso, observa-se contribuição em 3320 cm^{-1} que pode ser associada a alongamentos da ligação H–O, corroborando com as análises apresentadas anteriormente sobre os dados MIR. Esses resultados estão alinhados com aqueles obtidos por Duarte e colaboradores (DUARTE et al., 2004), onde foi proposto o uso de dados MIR como ferramenta para controle de qualidade de cervejas, no qual a região entre 1200 e 800 cm^{-1} foi utilizada para a separação de cervejas sem álcool das demais por meio da construção da PCA.

Amargor teve melhor resultado em sua predição quando aplicado modelo PLS nos dados de ESI(-)FT-ICR MS, construído com 3 VL que somam 50,54% da variância explicada, no qual destaca-se a contribuição dos sinais em $347,18$ e $361,20\text{ m/z}$, atribuídos a, respectivamente, presença de Isocohumulona e (+)-*cis*-isohumulona ou isoadhumulona ou humulona, compostos derivados do lúpulo e que são responsáveis por conferir amargor a bebida, corroborando com as análises apresentadas anteriormente sobre os dados de massas.

Adicionalmente, partir da construção de uma PCA com os dados de MIR e ESI(+)FT-ICR MS foi possível classificar as cervejas quanto a presença de álcool e o método de produção (industrial ou artesanal). Nas Figuras 37 e 38 são apresentados os gráficos de *scores* e *loadings* das duas componentes principais da PCA construída com dados de MIR. Nela, nota-se a formação de dois grupos bem definidos. As amostras isentas de álcool formaram um agrupamento no quadrante negativo da 1ª Componente Principal, PC1. Enquanto que o eixo $PC1 > 0$ agrupa, majoritariamente, cervejas alcoólicas. A avaliação do gráfico de *loadings* (Figura 37), permite identificar que a região de impressão digital colabora significativamente para a PC1 e PC2, região que apresenta bandas associadas ao etanol ($1050\text{-}1040$ e $875\text{-}865\text{ cm}^{-1}$). O resultado da PCA indica boa sensibilidade do MIR na distinção das cervejas zero álcool (sem etanol) das demais.

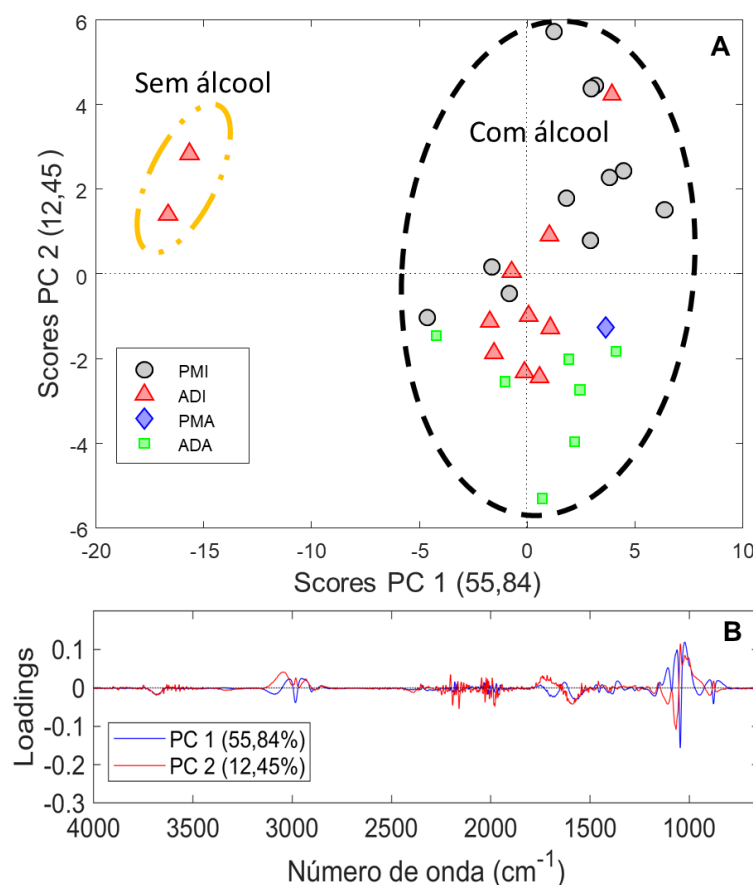


Figura 37. Gráfico de scores e loadings das duas primeiras componentes principais para MIR. Sendo: Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA)

Na Figura 38 são apresentados os gráficos de scores e loadings das duas componentes principais da PCA construída por ESI(+)FT-ICR MS. Nota-se a formação de dois grupos bem definidos. No qual, no quadrante positivo da 1ª Componente Principal, PC1, agruparam-se as amostras artesanais, caracterizadas pela maior presença de sinais associados a compostos nitrogenados (proteínas e aminoácidos). E, no quadrante negativo da PC1, estão agrupadas, majoritariamente, as cervejas industriais, identificadas pela menor quantidade e intensidade de sinais atribuídos a proteínas e aminoácidos.

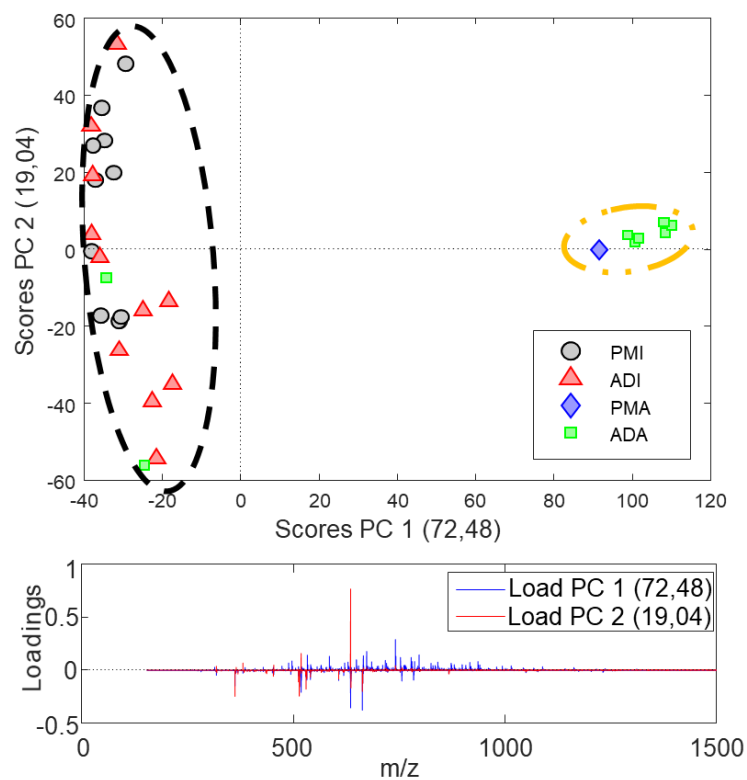


Figura 38. Gráfico de scores e *loadings* das duas primeiras componentes principais para ESI(+)FT-ICR MS. Sendo: Puro Malte Industrial (PMI), Adjunto Industrial (ADI), Puro Malte Artesanal (PMA), Adjunto Artesanal (ADA)

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que as cervejas artesanais apresentam maior intensidade e quantidade de sinais atribuídos a aminoácidos e proteínas. Enquanto a carbonatação por adição de sacarose aumenta o consumo dos compostos nitrogenados por meio de leveduras. Com isso, as características de cervejas artesanais carbonatadas com essa técnica se tornam semelhantes às bebidas industriais. Além disso, foi observada redução na eficiência da fermentação em função do aumento na concentração (%m/m) de adjuntos durante a mostura, resultando em bebidas com menor teor alcoólico. Contudo, a adição de milho colabora para o aumento do amargor da cerveja, enquanto o emprego do arroz tem efeito inverso.

A aplicação de modelos quimiométricos permitiu correlacionar os espectros das amostras de cerveja com suas propriedades físico-químicas e agrupar bebidas de acordo com sua composição e processos produtivos. Dentre as técnicas utilizadas no estudo, a MIR foi a que apresentou melhor desempenho para prever o teor alcoólico, a densidade e classificar as bebidas quanto à presença, ou não, de etanol. Enquanto que a ESI(-)FT-ICR MS apresenta bons resultados na predição do amargor das cervejas e na identificação do processo produtivo (artesanal e industrial). Em função da complexidade que a cerveja apresenta em sua matriz composicional, não foram obtidos resultados satisfatórios para a predição de cor, acidez total e pH. Contudo é importante destacar que determinação experimental de amargor e teor alcoólico são as que demandam maior tempo e uso de reagentes, indicando que os resultados obtidos podem colaborar para maior rapidez na obtenção dos dados, combinado à redução de reagentes.

6. REFERÊNCIAS

ABRACERVA. **ESTATUTO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS MICROVERVEJARIAS – ABRACERVA.** Disponível em: <<https://abracerva.com.br/sobre/estatuto/>>. Acesso em: 22 maio. 2021.

ALMEIDA, C. et al. Composition of Beer by ¹H NMR Spectroscopy: Effects of Brewing Site and Date of Production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 3, p. 700–706, fev. 2006.

ALWORTH, J. **The Beer Bible**. New York: Workman Publishing, 2015.

AMBRA, R.; PASTORE, G.; LUCCHETTI, S. The Role of Bioactive Phenolic Compounds on the Impact of Beer on Health. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 486, 18 jan. 2021.

ANALYTICA -EBC. **Section 9 Beer. Method 9.6 Colour of Beer: Spectrophotometric Method**. Bruxelas: [s.n.].

ANDRÉS-IGLESIAS, C. et al. Mass spectrometry-based metabolomics approach to determine differential metabolites between regular and non-alcohol beers. **Food Chemistry**, v. 157, p. 205–212, 2014.

ARAÚJO, A. S. et al. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of beer. **The Analyst**, v. 130, n. 6, p. 884, 2005.

AYABE, T. et al. Matured Hop-Derived Bitter Components in Beer Improve Hippocampus-Dependent Memory Through Activation of the Vagus Nerve. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 15372, 18 dez. 2018.

BAI, F. W.; ANDERSON, W. A.; MOO-YOUNG, M. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. v. 26, p. 89–105, 2008.

BAMFORTH, C. W. **Beer: Health and nutrition**. [s.l: s.n.]. v. I

BAMFORTH, C. W. et al. **Beer: A Quality Perspective**. London: [s.n.].

BANAT, I. M. et al. Review : Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations : Part I - Yeasts in general. v. 14, n. 1971, p. 809–821, 1998.

BARROS NETO, B. DE; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401–1406, dez. 2006.

BARTH, R. **The Chemistry of Beer: The Science in the Suds**. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2013. v. 97

BARTH-HAAS GROUP. The Barth Report Hops 2018/2019. **The Barth Report Hops 2018/2019**, p. 32, 2019.

BEERSMITH. **version 2.3.12** Clifton, Virginia BeerSmith LLC, , 2012.

BETTIOL, W., AUGUSTO, M., MORANDI, B., VEGETTE, Z., TRAZILBO, P., DE, J.,

ÉLIDA, P. J., CORRÊA, B., BITTENCOURT, A., CLEUSA, M., LUCON, M. M., DE CÁSSIA, J., COSTA, B., & BEZERRA, J. L. (2012). *Documentos 88: Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas*. Embrapa.

BETTENHAUSEN, H. M. et al. Influence of malt source on beer chemistry, flavor, and flavor stability. **Food Research International**, v. 113, n. March, p. 487–504, 2018.

BRESSAN, W., & FIGUEIREDO, J. E. F. (2003). *Comunicado Técnico 65: Controle de Fusarium moniliforme em sementes de milho por actinomicetos*. Embrapa.

BIANCOLILLO, A. et al. Data-fusion for multiplatform characterization of an italian craft beer aimed at its authentication. **Analytica Chimica Acta**, v. 820, p. 23–31, abr. 2014.

BLANCO, C. A.; ROJAS, A.; NIMUBONA, D. Effects of acidity and molecular size on bacteriostatic properties of beer hop derivates. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 3, p. 144–149, mar. 2007.

BOYCE, M. S. et al. Evaluating resource selection functions. **Ecological Modelling**, v. 157, n. 2–3, p. 281–300, nov. 2002.

BONJAR, S. G. H. et al. Broadspectrim, A Novel Antibacterial from Streptomyces sp. **Biotechnology(Faisalabad)**, v. 3, n. 2, p. 126–130, 15 jun. 2004.

BRASIL. **Manual Operacional de Bebidas e Vinagres**. Brasília, 2008. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/bebidas-e-vinagres-metodos-da-area-bev-qa-1>>

BRASIL. **Decreto Nº 6.871 de 04 de junho de 2009**. Brasil, 2009. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007?2010/2009/decreto/d6871.htm>

BRASIL. **DECRETO Nº 9.902, DE 8 DE JULHO DE 2019**, 2019a. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2019/decreto/D9902.htm>

BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 65, DE 10 DE DEZEMBRO DE 2019**Brasil, 2019b. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>>

BRASIL. **Anuário da Cerveja 2020**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>>.

BREWERS ASSOCIATION. **Craft brewer definition**. Disponível em: <<https://www.brewersassociation.org/statistics-and-data/craft-brewer-definition/>>. Acesso em: 29 fev. 2020.

BROOKES, P. A.; LOVETT, D. A.; MACWILLIAM, I. C. THE STEEPING OF BARLEY. A REVIEW OF THE METABOLIC CONSEQUENCES OF WATER UPTAKE, AND THEIR PRACTICAL IMPLICATIONS. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 82, n. 1, p. 14–26, 2 jan. 1976.

BRUNELLI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-

química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19–27, 2014.

BURNS, C. S. et al. Mechanism for formation of the lightstruck flavor in beer revealed by time-resolved electron paramagnetic resonance. **Chemistry: A European Journal**, v. 7, n. 21, p. 4553–4561, 2001.

HEGGART, H. et al. Factors Affecting Yeast Viability and Vitality Characteristics : A Review. **MBAA Technical quarterly**, 1999.

CABALLERO, I.; BLANCO, C. A.; PORRAS, M. Iso- α -acids, bitterness and loss of beer quality during storage. **Trends in Food Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 21–30, 2012.

CALLEMIEN, D.; COLLIN, S. Structure, organoleptic properties, quantification methods, and stability of phenolic compounds in beer-A review. **Food Reviews International**, v. 26, n. 1, p. 1–84, 2010.

CARUSO, A. **Os ingredientes da cerveja artesanal são a sua identidade**. Disponível em: <<https://www.cervejariacampinas.com.br/blog/harmonizacao-cerveja-artesanal/>>. Acesso em: 15 out. 2021

CECCARONI, D. et al. Specialty rice malt optimization and improvement of rice malt beer aspect and aroma. **LWT**, v. 99, p. 299–305, jan. 2019.

CENTRAL BREW. **Coloração da cerveja: o que influencia no final**. Disponível em: <<https://centralbrew.com.br/blog/coloracao-da-cerveja-o-que-influencia-no-final/#:~:text=A%20colora%C3%A7%C3%A3o%20da%20cerveja%20est%C3%A1%20diretamente%20ligada%20ao%20seu%20tipo%20e%20receita.&text=Algumas%20cervejas%20s%C3%A3o%20mais%20escuras,tamb%C3%A9m%20podem%20interferir%20na%20cor.>>. Acesso em: 02 nov. 2021.

CERVBRASIL. **O mapa da cerveja no Brasil**. Disponível em: <http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/o-mapa-atualizado-da-cerveja-no-brasil/>. Acesso em: 21 maio. 2021.

CERVEJARIA FARRAPOS. **04 diferenças entre Cerveja Artesanal e Cerveja Industrial Nossos Produtos**. Disponível em: <www.farrapos.rs/04-diferencas-entre-cerveja-artesanal-e-cerveja-industrial/>. Acesso em: 21 maio. 2021.

CERVEJARIA LEOPOLDINA. **4 diferenças entre cervejas artesanais e industrializadas**. Disponível em: <blog.cervejarialeopoldina.com.br/diferencas-entre-cervejas-artesanais-e-industrializadas/>. Acesso em: 21 maio. 2021.

CERVESIA. **Artigos recentes News mais lidos**. Disponível em: <<https://www.cervesia.com.br/noticias/curiosidades/1010-qual-a-diferenca-entre-cerveja-industrializada-e-cerveja-artesanal.html>>. Acesso em: 21 maio. 2021.

CHEIRAN, K. P. et al. Simultaneous identification of low-molecular weight phenolic and nitrogen compounds in craft beers by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 286, n. June 2018, p. 113–122, 2019.

CHEN, Y. BIN et al. Effect of B-complex vitamins on the antifatigue activity and bioavailability of ginsenoside Re after oral administration. **Journal of Ginseng Research**, v. 41, n. 2, p. 209–214, abr. 2017.

CHO, J.-H. et al. Persimmon fruit enhanced quality characteristics and antioxidant potential of beer. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 4, p. 1067–1073, 24 ago. 2018.

CLUBE DO MALTE. **O que a cerveja artesanal tem de diferente?** Disponível em: <<https://www.clubedomalte.com.br/blog/o-que-a-cerveja-artesanal-tem-de-diferente/>>. Acesso em: 21 maio. 2021.

COLGATE, E. C. et al. Xanthohumol, a prenylflavonoid derived from hops induces apoptosis and inhibits NF-kappaB activation in prostate epithelial cells. **Cancer Letters**, v. 246, n. 1–2, p. 201–209, fev. 2007.

CORET, J. M. **Novel Esters as Useful Broad Spectrum Herbicidal Compounds** United States, 2008. Disponível em: <<https://pdfaiw.uspto.gov/.aiw?PageNum=0&docid=20080114168&IDKey=22B63B48F796&HomeUrl=http%3A%2F%2Fappft.uspto.gov%2Fnetacgi%2Fnph-Parser%3Fp%3D1%2526u%3D%25252Fnethtml%25252FPTO%25252Fsearch-adv.html%2526r%3D1%2526f%3DG%2526l%3D50%2526d%3DPG01%2526s1%3D2>>

CROPLIFE INTERNATIONAL. **Implementación del Manejo Integrado de Malezas para los Cultivos Tolerantes a Herbicidas**. Brussels: [s.n.]. Disponível em: <<https://www.chilebio.cl/wp-content/uploads/2015/09/Implementación-del-Manejo-Integrado-de-Malezas-para-los-Cultivos-Tolerantes-a-Herbicidas.pdf>>.

CROTTI, A. E. M. et al. Espectrometria de massas com ionização por “Electrospray”: Processus químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 287–292, 2006.

CROUCH, D. S. D. W. J. H. S. **Fundamentos de Química Analítica**. 4. ed. Nova Iorque: Saunders College, 1992.

ČULÍK, J. et al. Determination of short chain fatty acids isomers, the sensory active products of hops aging, in beer. **Kvasny Prumysl**, v. 59, n. 4, p. 86–90, 1 abr. 2013.

DA SILVA, G. C. et al. Method development by GC–ECD and HS-SPME–GC–MS for beer volatile analysis. **Food Chemistry**, v. 167, p. 71–77, jan. 2015.

DA SILVA, L. A. et al. Discrimination of Brazilian lager beer by ¹H NMR spectroscopy combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 272, p. 488–493, 2019.

DANEZIS, G. P. et al. Food authentication: Techniques, trends & emerging approaches. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 85, p. 123–132, dez. 2016.

DAS, A. J. et al. In Vitro Antioxidant Activities of Polyphenols Purified from Four Plant Species Used in Rice Beer Preparation in Assam India. **International Journal of Food Properties**, v. 19, n. 3, p. 636–651, 3 mar. 2016.

D'AVILA, R. et al. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60–68, 31 dez. 2012.

DE KEUKELEIRE, D. FUNDAMENTALS OF BEER AND HOP CHEMISTRY Denis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 108–112, 2000.

DE SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: UM tutorial, parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223–229, 2012.

DESOBGO, Z. S. C.; STAFFORD, R. A.; METCALFE, D. J. A. Dimethyl Sulfide Stripping Behavior during Wort Boiling Using Response Surface Methodology. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 73, n. 1, p. 84–89, 5 jan. 2015.

DESOBGO, Z. S. C.; STAFFORD, R. A.; METCALFE, D. J. A. Modeling of Dimethyl Sulfide Stripping Behavior When Applying Delayed Onset of Boiling during Wort Boiling. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 75, n. 3, p. 269–275, 5 jun. 2017.

DI GHIONNO, L. et al. Comparative study on quality attributes of gluten-free beer from malted and unmalted teff [*Eragrostis tef* (zucc.) trotter]. **LWT**, v. 84, p. 746–752, out. 2017.

DOLL, R. et al. Mortality in relation to consumption of alcohol: 13 years' observations on male British doctors. **Bmj**, v. 309, n. 6959, p. 911, 1994.

DORVAL M. COELHO NETO, CRISTINA M. S. SAD, BETINA P. OLIVEIRA, EUSTÁQUIO V. R. CASTRO, WANDERSON ROMÃO, PAULO R. FILGUEIRAS, V. L. J. **Identificação de padrões de cervejas por espectroscopia FTIR e PCA**. 19º Encontro Nacional de Química Analítica e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica. **Anais...**Caldas Novas, GO: 2018.

DORVAL M. COELHO NETO, CRISTINA M. S. SAD, MAYARA SILVA; FRANCINE D. DOS SANTOS, LAÍNE B. PEREIRA, RAYANE R. B. CORONA, JOÃO F. P. BASSANE, EUSTÁQUIO V. R. DE CASTRO, PAULO R. FILGUEIRAS, V. L. J. **Uso de frequências ultrassônicas para desgaseificação de cervejas**. VI Encontro Capixaba de Química - SBQ/ES. **Anais...**Vitória: 2017.

DOS SANTOS BERNARDI, G. et al. Microfiltration for Filtration and Pasteurization of Beers. In: **Engineering Tools in the Beverage Industry**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 405–434.

DROST, B. W. et al. Flavor Stability. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 48, n. 4, p. 124–131, 1990.

DU, Q. et al. Rapid assessment of the quality of Qingkailing products using wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry combined with multivariate statistical analysis. **Analytical Methods**, v. 7, n. 11, p. 4803–4810, 2015.

DUARTE, I. et al. High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and

Multivariate Analysis for the Characterization of Beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2475–2481, abr. 2002.

DUARTE, I. F. et al. Application of NMR spectroscopy and LC-NMR/MS to the identification of carbohydrates in beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 17, p. 4847–4852, 2003.

DUARTE, I. F. et al. Multivariate Analysis of NMR and FTIR Data as a Potential Tool for the Quality Control of Beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1031–1038, mar. 2004.

ELBARBARY, N. S. et al. Vitamin B complex supplementation as a homocysteine-lowering therapy for early stage diabetic nephropathy in pediatric patients with type 1 diabetes: A randomized controlled trial. **Clinical Nutrition**, n. January, p. 1–8, jan. 2019.

EVANGELISTA, A. F. et al. Produção e estudo do potencial de hidrólise de uma nova fonte de enzimas amilolíticas a partir do malte de milho (Zea mays). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2005.

EVANS, D. E. et al. Measurement of Beta-amylase in Malting Barley (*Hordeum vulgare* L.). I. Development of a Quantitative ELISA for Beta-amylase. **Journal of Cereal Science**, v. 26, n. 2, p. 229–239, set. 1997.

FARHAT, N. H. Photonic neural networks and learning machines. **IEEE Expert**, v. 7, n. 5, p. 63–72, out. 1992.

FERNÁNDEZ PIERNA, J. A. et al. Trappist beer identification by vibrational spectroscopy: A chemometric challenge posed at the “Chimiométrie 2010” congress. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 113, p. 2–9, 2012.

FERREIRA, I. M.; GUIDO, L. F. Impact of Wort Amino Acids on Beer Flavour: A Review. **Fermentation**, v. 4, n. 2, p. 23, 28 mar. 2018.

FERREIRA, M. M. C; ANTURNES, A. M; MELGO, M. S; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração Multivariada, um Tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p. 724–731, 1999.

FINCHER, G. B. Molecular and Cellular Biology Associated with Endosperm Mobilization in Germinating Cereal Grains. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 40, n. 1, p. 305–346, jun. 1989.

FUMI, M. D. et al. Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all-malt and maize adjunct lager beers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 4–5, p. 568–573, jun. 2011.

GALAFASSI, S. et al. Dekkera/Brettanomyces yeasts for ethanol production from renewable sources under oxygen-limited and low-pH conditions. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 8, p. 1079–1088, 2011.

GERHÄUSER, C. Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. **European Journal of Cancer**, v. 41, n. 13, p. 1941–1954, 2005.

GHASEMI-VARNAMKHAISTI, M. et al. Monitoring the aging of beers using a bioelectronic tongue. **Food Control**, v. 25, n. 1, p. 216–224, maio 2012.

GHASEMI-VARNAMKHAISTI, M.; FORINA, M. NIR spectroscopy coupled with multivariate computational tools for qualitative characterization of the aging of beer. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 100, p. 34–40, jan. 2014.

GIOVENZANA, V.; BEGHI, R.; GUIDETTI, R. Rapid evaluation of craft beer quality during fermentation process by vis/NIR spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 142, p. 80–86, dez. 2014.

GODTFREDSEN, S. E.; OTTESEN, M. Maturation of beer with α -acetolactate decarboxylase. **Carlsberg Research Communications**, v. 47, n. 2, p. 93–102, mar. 1982.

GOIANA, M. L. et al. Análises Físico-Químicas de Cervejas Artesanais Pale Ale Comercializadas em Fortaleza, Ceará. **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 55, n. 85, p. 1–5, 2016.

GONÇALVES, M. et al. Distinct Domestication Trajectories in Top-Fermenting Beer Yeasts and Wine Yeasts. **Current Biology**, v. 26, n. 20, p. 2750–2761, out. 2016.

GONZALEZ VIEJO, C. et al. Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. **Food Chemistry**, abr. 2019.

GRASSI, S. et al. Beer fermentation: Monitoring of process parameters by FT-NIR and multivariate data analysis. **Food Chemistry**, v. 155, p. 279–286, jul. 2014.

GUERRINI, L. et al. A Technological Solution to Modulate the Aroma Profile during Beer Fermentation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 6, p. 1259–1266, 2018.

GUTIERREZ, L. E. Efeito da adição de sulfato de amônio sobre a produção de ácido succínico durante a fermentação alcoólica. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 45, n. 0, p. 433–440, 1988.

HACH. **DR6000 en la industria cervecera : Métodos importantes en conformidad con la MEBAK y la ASBC**. Loveland: [s.n.].

HAMPSON, T. **The Beer Book**. New York: First American Edition, 2008.

HARRISON, M. A.; ALBANESE, J. B. Beer/Brewing ☆. In: **Reference Module in Life Sciences**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 23–33.

HAZRA, S.; HOSSAIN, M.; SURESH KUMAR, G. Binding of isoquinoline alkaloids berberine, palmatine and coralyne to hemoglobin: Structural and thermodynamic characterization studies. **Molecular BioSystems**, v. 9, n. 1, p. 143–153, 2013.

HE, Y. et al. Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer - A review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 3, p. 157–163, 2014.

HENDERSON, M. C. et al. In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus*. **Xenobiotica**, v. 30, n. 3, p. 235–251, 22 jan. 2000.

HERRERA-GAMBOA, J. G. et al. Proteomic analysis of two malting barleys (*Hordeum vulgare* L.) and their impact on wort quality. **Journal of Cereal Science**, v. 80, p. 150–157, mar. 2018.

HERSCHEL, W. XIII. Investigation of the powers of the prismatic colours to heat and illuminate objects; with remarks, that prove the different refrangibility of radiant heat. To which is added, an inquiry into the method of viewing the sun advantageously, with telescopes of large apertures and high magnifying powers. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 90, p. 255–283, 31 dez. 1800.

HIPPELI, S.; ELSTNER, E. F. Are Hydrophobins and/or Non-Specific Lipid Transfer Proteins Responsible for Gushing in Beer? New Hypotheses on the Chemical Nature of Gushing Inducing Factors. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 57, n. 1–2, p. 1–8, 1 fev. 2002.

HIRALAL, L.; OLANIRAN, A. O.; PILLAY, B. Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional conditions. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 117, n. 1, p. 57–64, 2014.

HOLT, S. et al. Bioflavoring by non-conventional yeasts in sequential beer fermentations. **Food Microbiology**, v. 72, p. 55–66, jun. 2018.

HOMINI LÚPULO. **Cervejas Artesanais c Cerveja Industrializada**. Disponível em: <<https://www.hominilupulo.com.br/cerveja-artesanal-e-industrializada/>>. Acesso em: 21 maio. 2021.

HORNSEY, I. S. Beer: History and Types. In: **Encyclopedia of Food and Health**. 1. ed. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 345–354.

HUGHES, E. D. B. P. S. **Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2001.

INNES, G. Cost-effectiveness of beer versus red wine for the prevention of symptomatic coronary artery disease. **Canadian Medical Association Journal**, v. 159, n. 12, p. 1463–1466, 1998.

J, Y. Y. et al. Rapid maturation of beer using an immobilized yeast bioreactor . 1 . Heat conversion of cw-acetolactate. **Journal of Biotechnology**, v. 38, p. 101–108, 1995.

JÉGOU, S. et al. Evidence of the Glycation and Denaturation of LTP1 during the Malting and Brewing Process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4942–4949, out. 2001.

JUNIOR, J. L. B. **Técnicas de análise direta em espectrometria de massas: soluções simples para complexas questões da química de produtos naturais à análise forense**, jul. 2020.

JURKOVÁ, M. et al. Control of antioxidant beer activity by the mashing process.

Journal of the Institute of Brewing, v. 118, n. 2, p. 230–235, 2012.

KALESSE, M. et al. The vinylogous Mukaiyama aldol reaction (VMAR) in natural product synthesis. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 4, p. 563–594, 2014.

KAPLAN, N. M.; PALMER, B. F.; DENKE, M. A. Nutritional and Health Benefits of Beer. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 320, n. 5, p. 320–326, nov. 2000.

KARABÍN, M. et al. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 3, p. 542–567, 2016.

KAROUI, R. Chapter 2 - Spectroscopic Technique: Mid-Infrared (MIR) and Fourier Transform Mid-Infrared (FT-MIR) Spectroscopies. In: SUN, D.-W. (Ed.). **Modern Techniques for Food Authentication (Second Edition)**. Second Edition ed. [s.l.] Academic Press, 2018. p. 23–50.

KAVALIER, A. R. et al. Targeted analysis of polyphenol metabolism during development of hop (*Humulus lupulus* L.) cones following treatment with prohexadione-calcium. **Food Chemistry**, v. 145, p. 254–263, 2014.

KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer Aided Design of Experiments. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 137–148, fev. 1969.

KHATIB, A. et al. Application of two-dimensional J-resolved nuclear magnetic resonance spectroscopy to differentiation of beer. **Analytica Chimica Acta**, v. 559, n. 2, p. 264–270, 2006.

KOHNO, J. et al. Isolation and structure determination of TMC-151s: Novel polyketide antibiotics from *Gliocladium catenulatum* Gilman & Abbott TC 1280. **Tetrahedron**, v. 55, n. 25, p. 7771–7786, jun. 1999.

KIRKPATRICK, K. R.; SHELLHAMMER, T. H. Evidence of Dextrin Hydrolyzing Enzymes in Cascade Hops (*Humulus lupulus*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 34, p. 9121–9126, 2018.

KISHIMOTO, T. et al. Simulation of Pilsner-type beer aroma using 76 odor-active compounds. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 126, n. 3, p. 330–338, 2018.

KLAMPFL, C. W. et al. Determination of purines and pyrimidines in beer samples by capillary zone electrophoresis. **Analytica Chimica Acta**, v. 454, n. 2, p. 185–191, mar. 2002.

KONDO, K. Beer and health: Preventive effects of beer components on lifestyle-related diseases. **BioFactors**, v. 22, n. 1–4, p. 303–310, 2008.

KONG, Z. et al. The fungicide triadimefon affects beer flavor and composition by influencing *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. **Scientific Reports**, v. 6, n. September, p. 1–10, 2016.

KUBALLA, T. et al. Application of NMR for authentication of honey, beer and spices.

Current Opinion in Food Science, v. 19, p. 57–62, 2018.

KUNZE, W. **Technology, Brewing and Malting**. 3. ed. Berlin: VLB Berlin, 2004.

KYOTO ENCYCLOPEDIA OF GENES AND GENOMES. **COMPOUND: C18890**. Disponível em: <https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?cpd:C18890>. Acesso em: 28 fev. 2020.

LACOSTE, L.; HUNG, J.; LAM, J. Y. T. Acute and delayed antithrombotic effects of alcohol in humans. **The American Journal of Cardiology**, v. 87, n. 1, p. 82–85, jan. 2001.

LANGOS, D.; GRANVOGL, M. Studies on the Simultaneous Formation of Aroma-Active and Toxicologically Relevant Vinyl Aromatics from Free Phenolic Acids during Wheat Beer Brewing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 11, p. 2325–2332, 2016.

LAPOLLI, C. **MERCADO DA CERVEJA 2018**. Brasília: [s.n.]. Disponível em: <https://ss-usa.s3.amazonaws.com/c/308468798/media/5cb723ad8b361/MERCADO_CERVEJEIRO_2018-2019.pdf>.

LENTZ, M. The Impact of Simple Phenolic Compounds on Beer Aroma and Flavor. **Fermentation**, v. 4, n. 1, p. 20, 2018.

LEONE, U. **Flor de Lúpulo**. Disponível em: <<https://pixabay.com/pt/lúpulo-fechar-se-natureza-plantas-1678583/>> Similar>. Acesso em: 7 dez. 2018.

LERMUSIEAU, G. et al. Nonoxidative Mechanism for Development of Trans -2-Nonenal in Beer. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 57, n. 1, p. 29–33, 26 jan. 1999.

LEWANDOWSKA, U. et al. Overview of Metabolism and Bioavailability Enhancement of Polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 50, p. 12183–12199, 18 dez. 2013.

LIMA, K. M. G. et al. **SENSORES ÓPTICOS COM DETECÇÃO NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO E MÉDIO**Quim. Nova. [s.l.: s.n.].

LIU, Y.; MA, T. J.; CHEN, J. Changes of the Flavonoid and Phenolic Acid Content and Antioxidant Activity of Tartary Buckwheat Beer during the Fermentation. **Advanced Materials Research**, v. 781–784, p. 1619–1624, set. 2013.

MACLEOD, L.; EVANS, E. Barley: Malting. In: **Encyclopedia of Food Grains**. 2. ed. [s.l.] Elsevier, 2016. v. 3–4p. 423–433.

MALIAROVA, M. et al. Flavonols HPLC Analysis, in Vitro Biological Activities in Selected Humulus Lupulus L. Genotypes. **Nova Biotechnologica et Chimica**, v. 12, n. 2, p. 129–140, 2013.

MANLEY, M.; BAETEN, V. Chapter 3 - Spectroscopic Technique: Near Infrared (NIR) Spectroscopy. In: SUN, D.-W. (Ed.). **Modern Techniques for Food Authentication (Second Edition)**. Second Edition ed. [s.l.] Academic Press, 2018. p. 51–102.

MARTÍNEZ-HUÉLAMO, M. et al. A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC–ESI-LTQ-Orbitrap-MS). **Food Chemistry**, v. 169, p. 336–343, 2014.

MATEO-GALLEGO, R. et al. Effect of an alcohol-free beer enriched with isomaltulose and a resistant dextrin on insulin resistance in diabetic patients with overweight or obesity. **Clinical Nutrition**, n. March, p. 1–9, mar. 2019.

MATSUI, R. et al. Convergent total synthesis of (+)-TMC-151C by a vinylogous mukaiyama aldol reaction and ring-closing metathesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 3, p. 680–683, 2011.

THE MATHWORKS. **MATLAB version 8.1.0.604 (R2013a)** Natick, Massachusetts, The MathWorks Inc., 2013.

MATSUI, R. et al. Convergent total synthesis of (+)-TMC-151C by a vinylogous mukaiyama aldol reaction and ring-closing metathesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 3, p. 680–683, 2011.

MERINAS-AMO, T. et al. In vivo and in vitro studies of the role of lyophilised blond Lager beer and some bioactive components in the modulation of degenerative processes. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 274–294, dez. 2016.

MEUSSDOERFFER, F. G. A Comprehensive History of Beer Brewing. In: **Handbook of Brewing**. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009. p. 1–42.

MIGNANI, A. G. et al. Optical measurements and pattern-recognition techniques for identifying the characteristics of beer and distinguishing Belgian beers. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 179, p. 140–149, mar. 2013.

MIZUNO, A. Evaluation of Antioxidant Activity on Flavor Stability of Beer and Beer-Like Beverages. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 71, n. 3, p. 131–137, 5 jun. 2013.

MOORE, K. et al. B-vitamins in Relation to Depression in Older Adults Over 60 Years of Age: The Trinity Ulster Department of Agriculture (TUDA) Cohort Study. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 20, n. 5, p. 551- 557.e1, maio 2019.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. São Paulo: Editora Alaúde, 2017.

MORALES-TOYO, M. Reacciones químicas en la cerveza. **Revista de Química PUCP**, v. 32, n. 1, p. 4–11, 2018.

MORAND, C. et al. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 275, n. 1, p. R212–R219, jul. 1998.

MOURA-NUNES, N. et al. Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles. v. 199, p. 8146, 2016.

MUDURA, E.; COLDEA, T. Hop-Derived Prenylflavonoids and Their Importance in

Brewing Technology – A Review. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology**, v. 72, n. 1, p. 195–199, 21 maio 2015.

MUKAMAL, K. J. et al. Prospective Study of Alcohol Consumption and Risk of Dementia in Older Adults. **Journal of the American Medical Association**, v. 289, n. 11, p. 1405–1413, 2003.

MURAKAMI, I. et al. Phytoceramide and sphingoid bases derived from brewer's yeast *Saccharomyces pastorianus* activate peroxisome proliferator-activated receptors. **Lipids in Health and Disease**, v. 10, p. 1–11, 2011.

MURRAY, L. J. et al. Inverse relationship between alcohol consumption and active *Helicobacter pylori* infection: The bristol *Helicobacter* project. **American Journal of Gastroenterology**, v. 97, n. 11, p. 2750–2755, 2002.

NETO, RIVALDO. **Os 6 passos de nossa cerveja de cada dia**. Disponível em: <<http://revista.algomas.com/colunistas/os-6-passos-de-nossa-cerveja-de-cada-dia-por-rivaldo-neto>> Acesso em: 08/04/2018.

NOZAWA, H. et al. Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 559, n. 1–2, p. 177–187, abr. 2004.

ODAI, H. et al. Inostamycins B and C, new polyether antibiotics. **The Journal of Antibiotics**, v. 47, n. 8, p. 939–941, 1994.

PALMER, J. **How To Brew: Everything You Need to Know to Brew Great Beer Every Time**. 4. ed. Boulder: Brewers Publications, 2017.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; **Introdução a Espectroscopia**. 5. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PEREIRA, H. V. et al. Paper spray mass spectrometry and PLS-DA improved by variable selection for the forensic discrimination of beers. **Analytica Chimica Acta**, v. 940, p. 104–112, out. 2016.

PETERSEN, B. O. et al. ¹H NMR spectroscopy for profiling complex carbohydrate mixtures in non-fractionated beer. **Food Chemistry**, v. 150, p. 65–72, 2014.

PHILPOTT, J.; TAYLOR, D. M.; WILLIAMS, D. R. Critical Assessment of Factors Affecting the Accuracy of the IoB Bitterness Method. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 55, n. 3, p. 103–106, 6 jun. 1997.

PINTO, M. et al. Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 215–222, 2015.

POLSHIN, E. et al. Beer quality screening by FT-IR spectrometry: Impact of measurement strategies, data pre-processings and variable selection algorithms. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 3, p. 188–198, out. 2011.

PRAET, T. et al. Changes in the hop-derived volatile profile upon lab scale boiling. **Food Research International**, v. 75, p. 1–10, set. 2015.

PREEDY, V. R. **Beer in Health and Disease Prevention**. London: Elsevier, 2009.

PRESTES, D. N. et al. The addition of defatted rice bran to malted rice improves the quality of rice beer. **Lwt**, p. 108262, 2019.

RASCÓN, A. J.; AZZOUZ, A.; BALLESTEROS, E. Use of semi-automated continuous solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic and non-alcoholic drinks from Andalucía (Spain). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 3, p. 1117–1125, fev. 2019.

REVISTA BEER ART. **Brasil chega a mil fábricas de cerveja**. Disponível em: <<https://revistabeerart.com/news/cervejarias-brasil-numeros>>. Acesso em: 28 fev. 2020.

RITA, E. **Lúpulo: planta trepadeira**. Disponível em: <<https://pixabay.com/pt/lúpulo-umbela-planta-de-alpinista-3542602/>>. Acesso em: 7 dez. 2018.

RODRIGUES, J. A. et al. Probing beer aging chemistry by nuclear magnetic resonance and multivariate analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 702, n. 2, p. 178–187, 2011.

RODRIGUES, J. E. A. et al. Quantification of organic acids in beer by nuclear magnetic resonance (NMR)-based methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 674, n. 2, p. 166–175, 2010a.

RODRIGUES, J. E. A. et al. Quantification of organic acids in beer by nuclear magnetic resonance (NMR)-based methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 674, n. 2, p. 166–175, 2010b.

RODRIGUES, K. L. et al. A novel beer fermented by kefir enhances anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities found isolated in its constituents. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 58–69, mar. 2016.

RODRÍGUEZ, Y. B.; AGUILAR, I. G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. DE. Utilização do malte de sorgo na produção de cerveja: revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 18 out. 2018.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova na Escola**, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.

SABIA, S. et al. Alcohol consumption and risk of dementia: 23 year follow-up of Whitehall II cohort study. **BMJ**, v. 362, p. k2927, 1 ago. 2018.

SALANȚĂ, L. C. et al. Characterisation of hop varieties grown in Romania based on their contents of bitter acids
 by HPLC in combination with chemometrics approach. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, n. No. 2, p. 148–155, 3 jun. 2016.

SAPATISTA. **Cerveja artesanal: conheça esse universo**. Disponível em: <<https://sapatista.com.br/cerveja-artesanal/>>. Acesso em: 21 maio. 2021.

SAVORANI, F.; TOMASI, G.; ENGELSEN, S. B. icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 202, n. 2, p. 190–202, fev. 2010.

SCHIEBER, A. Chapter 1 - Introduction to Food Authentication. In: SUN, D.-W. (Ed.). **Modern Techniques for Food Authentication (Second Edition)**. Second Edition ed. [s.l.] Academic Press, 2018. p. 1–21.

SILVA, D. S. N. et al. ESPECTROSCOPIA RAMAN E INFRAVERMELHO PRÓXIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE CAROTENOIDES EM AMOSTRAS VEGETAIS: UMA REVISÃO / RAMAN AND NEAR INFRARED SPECTROSCOPY FOR CAROTENOID IDENTIFICATION IN PLANT SAMPLES: A REVIEW. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 14285–14302, 2021.

SIMPSON, W. J.; FERNANDEZ, J. L. Mechanism of Resistance of Lactic Acid Bacteria to Trans -Isohumulone. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 52, n. 1, p. 9–11, 6 jan. 1994.

SIMPSON, W. J.; SMITH, A. R. W. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 72, n. 4, p. 327–334, abr. 1992.

SINDCERV. **O Setor em Números**. Disponível em: <<https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>>.

SMOLA, A. J.; SCHÖLKOPF, B. A tutorial on support vector regression. **Statistics and Computing**, v. 14, n. 3, p. 199–222, ago. 2004.

SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. M.; REZAEI, K. Health-Related Aspects of Beer: A Review. **International Journal of Food Properties**, v. 15, n. 2, p. 350–373, mar. 2012.

SPARROW, J. **Wild brews : beer beyond the influence of brewer's yeast**. Boulder: Brewers Publications, 2005.

SPRENG, S.; HOFMANN, T. Activity-Guided Identification of in Vitro Antioxidants in Beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 3, p. 720–731, 24 jan. 2018.

STATISTA. **Beer Report 2020**. Disponível em: <<https://www.statista.com/outlook/10010000/100/beer/worldwide>>.

ŠTULÍKOVÁ, K. et al. Therapeutic perspectives of 8-prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops. **Molecules**, v. 23, n. 3, 2018.

SUN, M. G. et al. Efficacy of vitamin B complex as an adjuvant therapy for the treatment of complicated vulvovaginal candidiasis: An in vivo and in vitro study. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 88, p. 770–777, 2017.

SUPELCO. **Manual Analysis Methods for the Brewery Industry**. Darmstadt: [s.n.].

THE BRITISH MUSEUM. **The Blau Monuments**. Disponível em:

<https://www.britishmuseum.org/research/collection_online/collection_object_details.aspx?objectId=368283&partId=1>. Acesso em: 21 ago. 2018a.

THE BRITISH MUSEUM. **The Flood Tablet / The Gilgamesh Tablet / Library of Ashurbanipal**. Disponível em:

<https://www.britishmuseum.org/research/collection_online/collection_object_details.aspx?objectId=309929&partId=1>. Acesso em: 21 ago. 2018b.

THUN, M. J. et al. Alcohol Consumption and Mortality among Middle-Aged and Elderly U.S. Adults. **New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 24, p. 1705–1714, 11 dez. 1997.

TOMASI, G.; SAVORANI, F.; ENGELSEN, S. B. icoshift: An effective tool for the alignment of chromatographic data. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 43, p. 7832–7840, 28 out. 2011.

ULLOA, P. A. et al. Effect of the Addition of Propolis Extract on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Craft Beer. **Journal of Chemistry**, v. 2017, p. 1–7, 2017.

UNESP, G. DE P. E M. **Espectroscopia de Absorção no Infravermelho (IRS)**. Disponível em: <<https://www2.sorocaba.unesp.br/gpm/ftir.htm>>. Acesso em: 17 jul. 2021.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Disponível em: <<http://www.tbca.net.br/index.html>>. Acesso em: 17 fev. 2020.

VELOSO DE OLIVEIRA, G. A.; SCHNEEDORF, J. M. Equilíbrio químico e cinética enzimática da interação de α -amilase com compostos fenólicos encontrados em cerveja. **Química Nova**, v. 40, n. 7, p. 726–732, 19 maio 2017.

WANG, Q. et al. Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from Hops. **Antiviral Research**, v. 64, n. 3, p. 189–194, dez. 2004.

WANNENMACHER, J.; GASTL, M.; BECKER, T. Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 953–988, 2018.

WENWEN, Y. et al. Molecular brewing: Molecular structural effects involved in barley malting and mashing. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, p. 583–592, fev. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global status report on alcohol and health 2018**. [s.l.: s.n.].

WU, L. et al. Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey – A challenge. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 86, p. 25–38, jan. 2017.

WUNDERLICH, S.; BACK, W. Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and Quality Criteria. In: **Beer in Health and Disease Prevention**. [s.l.] Elsevier, 2009. p. 3–16.

YILMAZER, M.; STEVENS, J. F.; BUHLER, D. R. In vitro glucuronidation of

xanthohumol, a flavonoid in hop and beer, by rat and human liver microsomes. **FEBS Letters**, v. 491, n. 3, p. 252–256, 2 mar. 2001.

YUAN, Y. et al. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by hops (*Humulus lupulus*) and hop prenylphenols. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 53, n. 1, p. 55–61, mar. 2014.

ZHANG, Z.-M.; CHEN, S.; LIANG, Y.-Z. Baseline correction using adaptive iteratively reweighted penalized least squares. **The Analyst**, v. 135, n. 5, p. 1138, 2010.

ZHU, M.; CUI, Y. Determination of 4-vinylgaiacol and 4-vinylphenol in top-fermented wheat beers by isocratic high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 6, p. 1018–1023, dez. 2013.