

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto sensu*
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FRANCINI APARECIDA BARRETO COSTANTIN

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL ESTILO *AMERICAN PALE ALE* ADICIONADA DE ZIMBRO (*Juniperus communis*)

PONTA GROSSA

2022

FRANCINI APARECIDA BARRETO COSTANTIN

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL ESTILO *AMERICAN PALE ALE* ADICIONADA DE ZIMBRO (*Juniperus communis*)

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem

PONTA GROSSA

2022

C838 Costantin, Francini Aparecida Barreto
Produção e Caracterização de Cerveja Artesanal Estilo *American Pale Ale* Adicionada de Zimbros (*Juniperus communis*) / Francini Aparecida Barreto Costantin. Ponta Grossa, 2022.
59 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem.

1. Aromas. 2. Inovação. 3. Qualidade. 4. Micro cervejarias. 5. Perfil sensorial. I. Salem, Renata Dinnies Santos. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664.2

TERMO DE APROVAÇÃO

FRANCINI APARECIDA BARRETO COSTANTIN

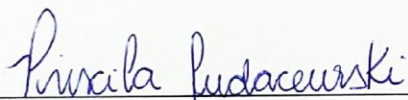
"Produção e caracterização de cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro (*Juniperus communis*)".

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

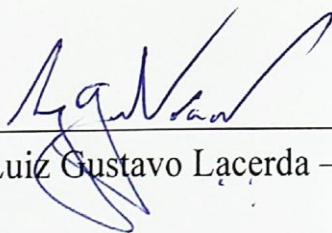
Orientador:



Prof.^a. Dr.^a. Renata Dinnies Santos Salem – UEPG-PR - Presidente



Prof.^a. Dra. Priscila Judacewski – UNICESUMAR-PR – Membro Titular Externo



Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda – UEPG-PR – Membro Titular Interno

Ponta Grossa, 25 de agosto de 2022.

RESUMO

O mercado cervejeiro está em notável crescimento voltado às micro cervejarias devido às expectativas dos consumidores na busca de alta qualidade e variedade de estilos, sabores e aromas do produto final. Com a infinidade de adjuntos que podem ser incorporados no processo de fabricação de cervejas, é possível atender a esta demanda, obtendo diversos produtos com características peculiares. A adição de zimbro (*Juniperus communis*) surge deste contexto, com o anseio de proporcionar um produto diversificado e com alto valor agregado. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar a cerveja artesanal do estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro em diferentes etapas do processo. Para isso, foram adicionados 0,03% de zimbro nas etapas de fermentação e maturação da cerveja. As cervejas, A (sem adição de zimbro), B (0,03% de zimbro adicionado na fermentação) e C (0,03% de zimbro adicionado na maturação), foram produzidas em escala laboratorial e caracterizadas com relação aos parâmetros: teor alcoólico, extrato primitivo, extrato aparente, extrato real, amargor, cor, pH, acidez total, turbidez e atividade antioxidante. As formulações também foram avaliadas sensorialmente por meio do teste de aceitabilidade e CATA (*Check-all-that-apply*). Paralelamente foram avaliadas amostras comerciais de cervejas estilo *American Pale Ale* a fim de estabelecer um comparativo com a cerveja adicionada de zimbro produzida neste trabalho. Os resultados demonstraram que a adição de zimbro na cerveja influenciou ($p < 0,05$) nos parâmetros de extrato real (3,53% - amostras B e C), pH (4,30 – amostra B e 4,33 – amostra C), cor (19,11 EBC – amostra B e 21,07 EBC – amostras C), turbidez (76,03% - amostra B e 75,50% - amostra C) e amargor (18,08 BU – amostra B e C). Em contrapartida, não foi observado diferença significativa na atividade antioxidante. Através da comparação com as marcas comerciais, por meio de análises físico-químicas, verificou-se que as cervejas produzidas se caracterizam como *American Pale Ale*. Na análise sensorial, as cervejas adicionadas de zimbro apresentaram melhor aceitabilidade, com destaque a amostra em que foi adicionada a especiaria na etapa de maturação, a qual foi a melhor avaliada quanto ao sabor (7,48), aroma (7,27) e amargor (7,0) e sendo caracterizada como cerveja de cor dourada, baixo teor alcóolico e residual amargo. Apesar da adição do zimbro ter corroborado na composição da bebida, se faz necessário o desenvolvimento de mais estudos utilizando-se de outras formas e concentrações de adicionar-se a especiaria na bebida e agregar valor ao produto.

Palavras-chave: Aromas. Inovação. Qualidade. Micro cervejarias. Perfil sensorial.

ABSTRACT

The beer market is experiencing notable growth aimed at micro breweries due to consumer expectations in the search for high quality and variety of styles, flavors and aromas of the final product. With the infinity of adjuncts that can be incorporated into the brewing process, it is possible to meet this demand, obtaining different products with peculiar characteristics. The addition of juniper (*Juniperus communis*) arises from this context, with the desire to provide a diversified product with high added value. Thus, the objective of this work was to develop and characterize the American Pale Ale style craft beer added with juniper at different stages of the process. For this, 0.03% of juniper was added in the fermentation and maturation stages of the beer. The beers, added with juniper and control (no addition), were produced on a laboratory scale and characterized with respect to the parameters: alcohol content, primitive extract, apparent extract, real extract, bitterness, color, pH, total acidity, turbidity and antioxidant activity. The formulations were also evaluated sensorially through the acceptability test and CATA (Check-all-that-apply). At the same time, commercial samples of American Pale Ale style beers were evaluated in order to establish a comparison with the beer added with juniper produced in this work. The results showed that the addition of juniper in beer influenced ($p < 0.05$) the parameters of real extract (3.53% - samples B and C), pH (4.30 - sample B and 4.33 - sample C), color (19.11 EBC - sample B and 21.07 EBC - sample C), turbidity (76.03% - sample B and 75.50% - sample C) and bitterness (18.08 BU - sample B and C). In contrast, no significant difference was observed in the antioxidant activity. Through comparison with commercial brands, through physical-chemical analysis, it was found that the beers produced are characterized as American Pale Ale. In the sensory analysis, the beers added with juniper showed better acceptability, especially the sample in which the spice was added in the maturation stage, which was the best evaluated for flavor (7.48), aroma (7.27) and bitterness (7.0) and being characterized as a beer with a golden color, low alcohol content and residual bitterness. Despite the addition of juniper having corroborated the composition of the drink, it is necessary to develop more studies using other ways and concentrations to add the spice in the drink and add value to the product.

Keywords: Flavors. Innovation. Quality. Micro breweries. Sensory profile.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Número de registros estabelecidos por ano no Brasil.	13
FIGURA 2 - Classificação das cores da cerveja de acordo a EBC (European Brewing Convention).	18
FIGURA 3 - Fluxograma do processamento das cervejas artesanais estilo American Pale Ale adicionadas de zimbro (B e C) e controle (A).	27
FIGURA 4 - Cervejas Artesanais Estilo American Pale Ale.	36
FIGURA 5 - Análises do perfil antioxidante das cervejas produzidas em escala laboratorial pelos métodos DPPH e ABTS.	39
FIGURA 6 - Análise dos componentes principais para as cervejas produzidas e para as cervejas comerciais.	42
FIGURA 7 - Análise dos componentes principais para as cervejas produzidas e para as cervejas comerciais.	43
FIGURA 8 - Análise de correspondência para caracterização de amostras de cervejas adicionadas de zimbro.	46
QUADRO 1 - Classificação das cervejas de acordo com a matéria-prima.	12
QUADRO 2 - Classificação das cervejas de acordo com a graduação alcóolica.	12
QUADRO 3 - Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada.	21
QUADRO 4 - Cervejas APA comerciais classificadas de acordo com a rotulagem.	26

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição iônica (mg/L) da água na produção de cervejas.	16
TABELA 2 - Formulação da cerveja artesanal	28
TABELA 3 - Análises físico-químicas das cervejas produzidas em escala laboratorial.....	36
TABELA 4 - Comparação entre os parâmetros físico-químicos e atividade antioxidante das cervejas produzidas (A, B e C) e a média das cervejas comerciais (COM).	40
TABELA 5 - Médias hedônicas do teste aceitabilidade realizadas para avaliar a cerveja artesanal estilo American Pale Ale adicionada ou não de zimbro.....	44
TABELA 6 - Frequências observadas em cada atributo para as cervejas avaliadas sensorialmente.	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	10
2.1	OBJETIVO GERAL	10
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1	CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA	11
3.2	A CERVEJA	12
3.2.1	<i>American Pale Ale</i>	14
3.3	MATÉRIAS-PRIMAS	15
3.3.1	Água	15
3.3.2	Malte	16
3.3.3	Lúpulo	18
3.3.4	Leveduras	19
3.4	ETAPAS DA PRODUÇÃO DE CERVEJA	20
3.5	O ZIMBRO COMO MATÉRIA-PRIMA	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1	MATERIAIS	26
4.2	MÉTODOS	26
4.2.1	Planejamento Experimental	26
4.2.2	Processamento da Cerveja	27
4.2.3	Análises Físico-Químicas	29
4.2.3.1	Determinação do teor alcoólico	29
4.2.3.2	Determinação do extrato real	30
4.2.3.3	Determinação do extrato aparente	30
4.2.3.4	Determinação do extrato primitivo	30
4.2.3.5	Determinação da acidez total	30
4.2.3.6	Determinação de amargor	31
4.2.3.7	Determinação de cor	31
4.2.3.8	Determinação de pH	32
4.2.3.9	Determinação da turbidez	32
4.2.4	Atividade Antioxidante	32
4.2.4.1	Inibição do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	32

4.2.4.2	Teste do radical ABTS+• (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)	32
4.2.5	Análise Sensorial	33
4.2.6	Análise Estatística.....	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE O PROCESSAMENTO.....	35
5.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS CERVEJAS	35
5.3	ANÁLISE DO PERFIL ANTIOXIDANTE.....	39
5.4	COMPARAÇÃO DAS CERVEJAS PRODUZIDAS COM MARCAS COMERCIAIS 40	
5.5	ANÁLISE SENSORIAL.....	44
5.5.1	Teste de Aceitabilidade.....	44
5.5.2	<i>Check-All-That-Apply</i> (CATA).....	45
	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS	49
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	56
	APÊNDICE B - FICHA DE AVALIAÇÃO: TESTE DE ACEITABILIDADE E CATA DA CERVEJA ARTESANAL AMERICAN PALE ALE ADICIONADA DE ZIMBRO.	59

1 INTRODUÇÃO

A cerveja vem sendo produzida há cerca de 13 mil anos e ocupa nos dias atuais a posição da bebida alcoólica mais consumida do mundo. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial, com um volume estimado em mais de 13,3 bilhões de litros produzidos anualmente (ARAÚJO, 2016; HUMIA *et al.*, 2020; SINDICERV, 2019).

A população em geral está cada vez mais atenta à saúde e exigente nas suas escolhas. Consequentemente, vem priorizando produtos com uma qualidade superior e maior valor agregado. Por isso, para manter-se no mercado competitivo, a cerveja vem sendo aprimorada a cada dia, buscando conquistar novos consumidores através da tecnologia, inovação, desenvolvimento e diversificação de produtos.

Paralelamente a este cenário, as micro cervejarias ou cervejarias artesanais, são as que mais vêm ganhando destaque no mercado cervejeiro. A perspectiva se deve a inúmeras inovações que têm sido realizadas para a elaboração da cerveja, buscando a diversificação de produtos, otimização do processo, além da redução de custos. A produção em pequena escala possibilita o desenvolvimento de produtos diferenciados aos consumidores mais exigentes, devido à produção por meio de formulações ou processos distintos aos utilizados em escala industrial. Adeptos à cerveja artesanal buscam a volta da história, da cultura e da qualidade da bebida.

A adição de zimbro (*Juniperus communis*) na cerveja surge deste contexto, com o anseio de proporcionar um produto diversificado e com valor agregado. Além de promover um sabor característico, possui grande interesse tecnológico devido ao seu óleo essencial, o qual lhe confere um alto poder aromatizante e apresenta potencial atividade antioxidante. Desta forma, este trabalho objetivou desenvolver e caracterizar a cerveja artesanal do estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro em diferentes etapas no processo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar uma cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro em diferentes etapas do processo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer um protocolo para produção de cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro.
- Avaliar as características físico-químicas e instrumentais da cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro (teor alcoólico, extrato primitivo, extrato aparente, extrato real, amargor, cor, pH, acidez total e turbidez).
- Avaliar o efeito da adição de zimbro sobre o perfil antioxidante.
- Avaliar sensorialmente a cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro.
- Comparar as características físico-químicas da cerveja artesanal adicionada de zimbro com as características de cervejas comerciais estilo *American Pale Ale*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA

A cerveja, que deriva da palavra latim *bibere* (beber), é uma das bebidas alcólicas mais antigas consumidas pela humanidade, sendo conhecida há cerca de 13 mil anos. A sua prática de fabricação iniciou-se na região da Mesopotâmia, onde a cevada cresce em estado selvagem (ARAÚJO, 2016; COELHO NETO *et al.*, 2020; HUMIA *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2018).

Não se sabe ao certo como a cerveja foi descoberta, contudo acredita-se que tenha ocorrido por acaso, na tentativa de recuperar grãos molhados no armazenamento através da secagem, por exemplo. Mais tarde então, esses grãos teriam sido macerados e adicionados de água para fabricação de pães (LEWIS, 2015). Segundo Silva *et al.* (2016), há uma íntima correlação entre a história dos pães e da cerveja, sendo que essa também é conhecida como pão líquido. Neste processo, teriam descoberto que poderiam extrair uma bebida adocicada e nutritiva, que se deixado, logo teria fermentado tornando-se uma bebida refrescante e ligeiramente alcóolica, isto é, a cerveja (LEWIS, 2015).

No Egito, a cerveja tornou-se uma bebida largamente consumida, principalmente na prática de ritos religiosos. A partir de então, seu conhecimento e consumo tomou dimensões maiores, se alastrando por todo o oriente, posteriormente à Europa e daí, para o resto do mundo (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016).

Com o passar dos anos, os processos de fabricação e a utilização de novos ingredientes foram sendo incorporados. Com o aumento da escala de produção e a introdução do lúpulo como matéria-prima, o Duque Guilherme IV da Bavária (Alemanha) aprovou em 1516 a *Reinheitsgebot*, Lei da Pureza da Cerveja, que determinava que a cerveja fosse produzida apenas com três ingredientes: água, malte de cevada e lúpulo (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016; ZARNKOW, 2014). Embora tenha influenciado a história e o desenvolvimento da cerveja, a Lei da Pureza é vista atualmente apenas como uma orientação, sendo que não é seguida em vários países (ARAÚJO, 2016).

No Brasil, a cerveja foi trazida em 1808 por D. João VI, durante a permanência da família real Portuguesa no Brasil Colônia (MEGA; NEVES; ANDRADE, 2011). Durante anos, a bebida consumida era importada de países europeus (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016). O mercado cervejeiro local só começou a conquistar seu espaço a partir do

ano de 1888, quando surgiu a Companhia Antarctica Paulista e a Manufatura de Cerveja Brahma Villigier & Companhia, as duas principais indústrias do país que mais tarde, no ano de 1999, se fundiriam para formar a Ambev (AMBEV, 2019; GIORGI, 2015).

3.2 A CERVEJA

A cerveja, segundo a Instrução Normativa nº 65 (MAPA), que estabelece os padrões de identidade e qualidade para produtos de cervejaria, é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada maltada ou de extrato de malte, submetido previamente ao processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo. A cevada maltada pode ser substituída em até 45% por adjuntos cervejeiros, como a própria cevada não maltada e demais cereais aptos para o consumo humano, maltados ou não-maltados, bem como amidos, açúcares e mel (BRASIL, 2019).

Em relação à classificação, as cervejas podem ser nomeadas de acordo com a matéria-prima utilizada e teor alcóolico, como mostram os Quadros 1 e 2 respectivamente:

QUADRO 1 - Classificação das cervejas de acordo com a matéria-prima.

Parâmetros	Extrato Primitivo (Ep) %m/m
Cervejas	Mín 55% cevada maltada, máx 45% adjuntos cervejeiros
Cerveja 100% malte ou puro malte	100% cevada maltada ou extrato de malte
Cerveja 100% malte de (nome do cereal maltado)	100% outro cereal maltado
Cerveja de (nome do cereal (s) majoritário(s), maltado(s) ou não.	Majoritariamente adjuntos cervejeiros

Fonte: Adaptado de BRASIL, 2019.

QUADRO 2 - Classificação das cervejas de acordo com a graduação alcóolica.

Parâmetros	Graduação Alcóolica %v/v
Cerveja sem álcool ou desalcoholizada	≤ 0,5
Cerveja com teor alcóolico reduzido ou baixo teor alcóolico	≥ 0,5 e ≤ 2,0
Cerveja	> 2,0

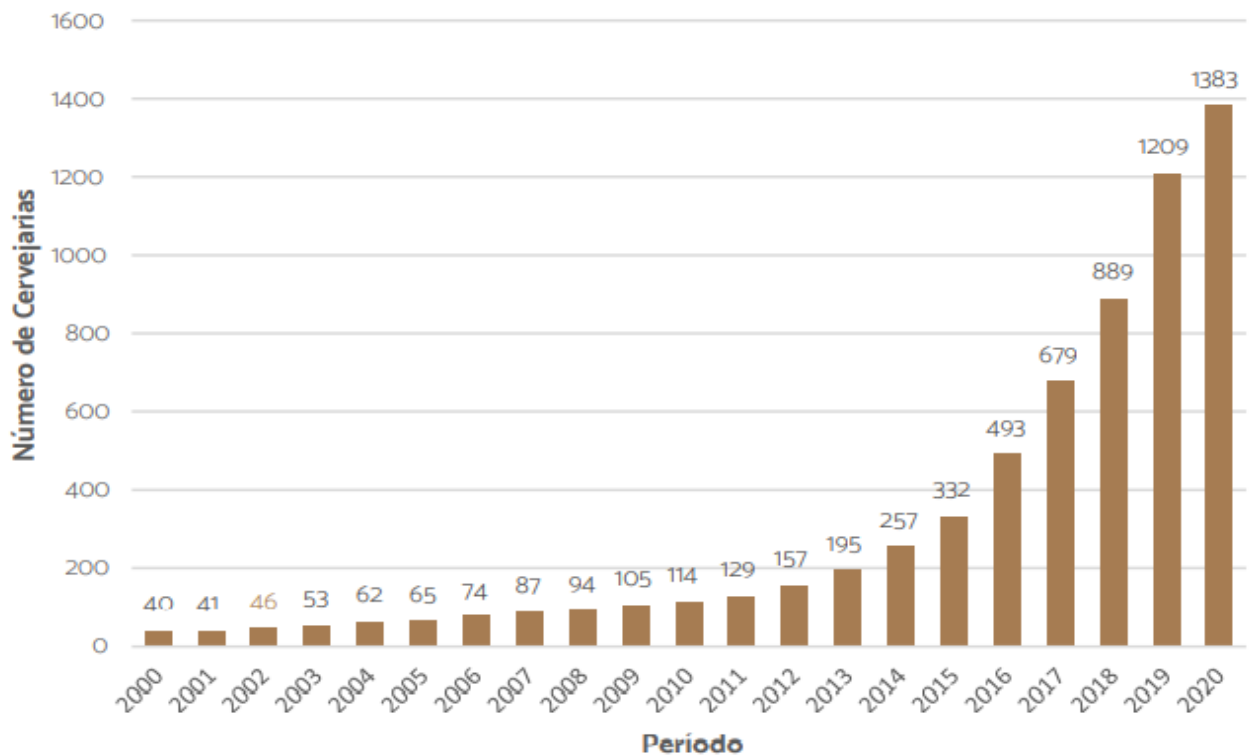
Fonte: Adaptado de BRASIL, 2019.

A cerveja é a bebida alcóolica mais consumida a nível mundial, sendo apreciada e associada a festividades e comemorações. Além do mais, quando consumida moderadamente,

pode proporcionar benefícios a saúde, semelhantemente ao vinho, pois possui uma variedade de compostos bioativos, vitaminas e minerais (GARCIA, 2017; PINTO *et al.*, 2015; VIEJO *et al.*, 2019). Spaggiari *et al.* (2020), demonstrou em seus estudos que o consumo moderado de álcool exerce uma ação protetora em termos de risco cardiovascular. De acordo com Coelho Neto *et al.* (2020), estudos sobre as atividades biológicas de compostos presentes na cerveja revelaram um potencial antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano, antitumoral, entre outros, ressaltando ainda assim, a conscientização de um consumo moderado.

O Brasil ocupa a terceira posição do *ranking* da produção global de cerveja, ficando atrás somente da China e dos Estados Unidos (DUTRA, 2019). Além disso, o crescimento da atividade cervejeira no país vem avançando de forma sustentada (MAPA, 2021). Segundo o anuário da cerveja (2021), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o Brasil alcançou a marca de 1.383 cervejarias, distribuídas em 26 estados e no Distrito Federal, sendo que em 2020 foi aberta a primeira cervejaria no Acre. Somente em 2020, foram registradas 204 novas cervejarias, um aumento de 14,4% em relação ao ano anterior. A Figura 1 demonstra o crescimento de cervejarias no Brasil nos últimos vinte anos.

FIGURA 1 - Número de registros estabelecidos por ano no Brasil.



Fonte: MAPA, 2021.

A maior parte das cervejarias concentra-se na região Sul-Sudeste representando 85,6% dos estabelecimentos. O estado que apresenta maior número de cervejarias é São Paulo (285), seguido de Rio Grande do Sul (258) e Minas Gerais (178). O Paraná ocupa a quinta posição (146). Apesar disso, os dados mostram grande crescimento no ano de 2020 para a região nordeste, com 41,4%, e Centro-Oeste com 22,8% (MAPA, 2021).

Dentre as cervejarias, as que mais vêm ganhando destaque no mercado são as micro cervejarias (DUTRA, 2019). De acordo com Silva *et al.* (2016), a fusão de grandes empresas multinacionais no setor cervejeiro, produzindo bilhões de litros anuais, gera a prevalência de algumas marcas no mercado. Na contramão desse processo, estão as cervejarias artesanais, que produzem uma bebida de melhor qualidade.

Adeptos à cerveja artesanal buscam a volta da história, da cultura e da qualidade da bebida. Além do mais, a perspectiva deve-se a inúmeras inovações que têm sido realizadas para a elaboração da cerveja, buscando a diversificação de produtos, otimização do processo, bem como a redução do custo do produto final (ARAÚJO, 2016; SILVA *et al.*, 2016).

Atualmente existem vários estilos de cervejas baseados na harmonização de ingredientes, processos e fatores culturais. Todavia, a distinção entre as cervejas é em maior parte, oriunda das variações a nível do substrato (mosto) em decorrência da fermentação (GARCIA, 2017).

3.2.1 *American Pale Ale*

As cervejas são classificadas de acordo com seu tipo de fermentação em dois grandes grupos: as *Lager*, representadas principalmente pela *Pilsen* e *Bock*; e as *Ale*, englobando estilos como *Weissbier*, *Porter*, *Brown Ale* e *Pale Ale* (GAMBA, 2016).

As cervejas *Pale Ale* englobam os estilos de cervejas de alta fermentação mais conhecidas e apreciadas do mundo. O seu nome remete a sua cor, a qual apresenta-se mais clara se comparada a outras *Ale* conhecidas (*Pale*, do inglês “pálido”), compreendendo uma coloração palha, próximo ao dourado. Possuem um aroma pronunciado e geralmente são mais encorpadas, amargas e aromáticas que a *Pilsen* (BJCP, 2021; SIDOOSKI, 2011).

A *American Pale Ale* (APA) caracteriza-se por ser uma cerveja *Pale Ale* refrescante, lupada de coloração clara variando do dourado ao âmbar claro. A categoria dessa cerveja define-se pelo uso de lúpulos e maltes de origem americana, que transmitem um forte aroma a bebida, bem como um leve dulçor e notas características destes ingredientes (BJCP, 2021).

O aroma da cerveja caracteriza-se principalmente pelo aroma de lúpulo que pode variar de moderado a forte, possuindo uma vasta gama de possíveis características, bem como cítricos, floral, pinho, resina, especiarias, frutas tropicais, frutas de caroço, *berries* ou melão. No entanto, o malte contribui no perfil de aromas da cerveja uma vez que influencia de modo baixo a moderado, apresentando características especiais de pão, torradas, biscoitos e caramelo (BJCP, 2021).

De acordo com a BJCP (2021) - Programa de Certificação de Juiz de Cerveja - uma das classificações mais usadas no mundo, as características da APA compreendem-se em: 1,045-1,060 OG (densidade original), 1,010-1,015 FG (densidade final), 30-50 IBU (Unidades Internacionais de Amargor), cor de 5-10 SRM (método padrão de referência) e 4,5-6,2% ABV (álcool por volume).

3.3 MATÉRIAS-PRIMAS

3.3.1 Água

A água é a principal matéria-prima utilizada na produção de cervejas em termos de quantidade, pois representa aproximadamente 92 a 95% do seu peso total. Por essa razão, tem grande impacto na qualidade do produto final, especialmente no que diz respeito à cor e sabor (HARRISON, 2009).

Para o processo cervejeiro, tem-se como requisito a potabilidade da água utilizada e o suprimento das necessidades tecnológicas, como pH entre 4,5 e 5,5, para maior extração de açúcares e proteínas dos grãos (BOULTON; QUAIN, 2008). Cervejarias, no entanto, ajustam o pH conforme o tipo de cerveja, fazendo uso de ácido cítrico ou carbonato de cálcio, além da desmineralização da água cervejeira (SORBO, 2017).

Em razão da região e de seu modo de obtenção, a água pode possuir diferentes quantidades de sais dissolvidos e ainda apresentar matéria orgânica e compostos gasosos, o que influencia diretamente no gosto e odor da bebida (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016). Todavia, se a água não apresentar a composição química adequada para determinada cerveja, pode ser tratada por diferentes processos que visam purificá-la e, se necessário, efetuar algumas modificações nos níveis de íons inorgânicos presentes (AMBEV, 2019).

A composição iônica da água correlacionada com os mais famosos centros cervejeiros é dada na Tabela 1. Em razão dessa composição, a água é classificada de acordo com a sua dureza, que é medida pela concentração de cálcio e magnésio que é balanceada, em

grande parte, pela alcalinidade, sendo essa relacionada à presença de bicarbonatos (SORBO, 2017). A água dura é assim classificada pelo alto conteúdo de cálcio e magnésio (200-350 mg/L); permanentemente dura é devido aos sulfatos, os quais não são removidos pela fervura; temporariamente dura devido ao conteúdo de bicarbonatos, estes sendo eliminados pela fervura e, água mole, é a que contém baixas concentrações de íons dissolvidos, especialmente cálcio e magnésio (ANDRADE, 2019; BAMFORTH; COOK, 2019; LEWIS, 2015).

TABELA 1 - Composição iônica (mg/L) da água na produção de cervejas.

Componente	Burton	Pilsen	Dublin	Munich
Cálcio	352	7	119	80
Magnésio	24	8	4	19
Sulfato	820	6	54	6
Cloro	16	5	19	1
Bicarbonato	320	37	319	333

Fonte: BAMFORTH; COOK, 2019.

De acordo com Boulton e Quain (2008), a utilização de água com carácter alcalino pode promover a extração de substâncias amargas presentes na casca do malte (por exemplo, taninos) e dificultar a hidrólise do amido. Por essa razão, a alcalinidade, bem como a dureza e o pH da água, são fatores de fundamental controle para a produção de cervejas.

A água a ser utilizada pode ser oriunda de poços artesianos ou da rede pública. Especialmente para esse último caso, o procedimento de limpeza, normalmente de filtração por carvão, deve ser incorporado (BAMFORTH; COOK, 2019).

3.3.2 Malte

Malte é a matéria-prima obtida pelo processo chamado malteação, que consiste em induzir controladamente a germinação dos grãos (AMBEV, 2019). Os maltes mais utilizados são os provenientes da cevada (RODRIGUES; AGUILLAR; SILVA, 2018). No entanto, outros cereais como trigo, arroz e aveia podem ser utilizados, considerando-se, entretanto, seu valor econômico e poder diastático, isto é, a soma da capacidade das enzimas hidrolisarem o amido (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016; SWANSTON *et al.*, 2014).

A cevada é uma gramínea da espécie *Hondeum vulgare*, cujos grãos estão alinhados em duas ou seis fileiras e envoltos por diversas camadas celulósicas (BAMFORTH; COOK,

2019). Segundo Barros e Ghesti (2016), as cevadas de duas fileiras são as mais indicadas para a produção do malte para fins cervejeiros, por possuírem grãos maiores, casca mais fina, alto teor de amido e baixo teor proteico.

A malteação tem por objetivo a ativação de enzimas e compostos importantes para a produção de cervejas, além de auxiliar na sua coloração e estabilidade. O processo pode ser dividido em três etapas: maceração, germinação e secagem (MARTINS; RODRIGUES, 2015).

Primeiramente, como pré-requisito, a cevada deve estar limpa, classificada e com um teor de umidade de cerca de 11-12% (LEWIS, 2015). Tais procedimentos garantem uma maior estabilidade dos grãos, proporcionando uma correta germinação e um comportamento mais homogêneo ao longo de todo processo (MARTINS; RODRIGUES, 2015).

A etapa de maceração consiste em aumentar a umidade dos grãos de cevada até cerca de 40-46%, proporcionando as condições necessárias para que a germinação possa acontecer (BAMFORTH; COOK, 2019). Isso ocorre em razão da produção de ácido giberélico pelo embrião, o qual atuará nas células da camada de aleurona, induzindo-o a produzir enzimas. Este processo é realizado alternadamente por intervalos, período de repouso de grão, o que faz com que remova o dióxido de carbono produzido. Ao todo, a maceração completa pode levar até 48 horas para ocorrer (MARTINS; RODRIGUES, 2015).

A etapa seguinte no processo de maltagem é a germinação. É nesta etapa que as enzimas ativas, amilases, β -glucanases, hemicelulases, proteases e β -amilases, serão transportadas até o endosperma do grão onde atuarão nas paredes celulares, nos grânulos de amido e na matriz proteica que os envolvem (BARROS; GHESTI, 2016).

Conforme Martins e Rodrigues (2015), a ação das proteases também parece influenciar algumas características da cerveja, tais como a turbidez, que é reduzida devido à ação destas enzimas. Outras alterações que ocorrem são o desenvolvimento da radícula e da plúmula, devido às alterações no metabolismo do grão (BARROS; GHESTI, 2016).

A etapa de germinação deve ser controlada a fim de que não haja formação de compostos *off-flavours*, como por exemplo o DMS (dimetilsulfeto), que ocasionam aromas e sabores indesejáveis na cerveja. A temperatura de germinação normalmente compreende-se entre 16-20 °C (COELHO NETO *et al.*, 2020).

A terceira e última etapa da malteação é a secagem, a qual tem por objetivo parar a germinação da cevada, através da redução do seu teor de umidade de 43% até 5%, inativando os microrganismos e fornecendo condições estáveis de armazenamento (BAMFORTH; DAVID, 2019).

Segundo Dragone *et al.* (2016), nesta fase, o amido presente no grão maltado apresenta-se em cadeias menores que na cevada, o que o torna menos duro e mais solúvel, possuindo enzimas no interior dos grãos que são fundamentais para o processo cervejeiro.

As condições de secagem do malte são de fundamental importância, uma vez que determinam as características do produto final no processo cervejeiro. Sendo assim, diversos tipos de maltes com diferentes cores, aromas e sabores são obtidos, e são utilizados de acordo com a identidade de cada cerveja (SWANSTON *et al.*, 2014).

Durante a secagem, o malte desenvolve uma coloração que se deve à formação de melanoidinas, provenientes das reações de Maillard (BARROS; GHESTI, 2016). A cor do malte é medida em unidade de cor EBC - *European Brewing Convention*, como mostra a Figura 2. Porém, os maltes secos convencionalmente podem, posteriormente, serem torrados originando um leque de cores desde 110 até 1500 EBC (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016).

FIGURA 2 - Classificação das cores da cerveja de acordo a EBC (European Brewing Convention).

SRM	2-3	3-4	5-6	6-9	10-14	17-18	19-22	22-30	30-35	30+	40+
EBC	4-6	4-8	10-12	12-18	20-28	33-36	37-43	43-59	59-69	69	79
COR	Palha	amarelo	Ouro	Âmbar profundo, cobre	cobre	Cobre escuro	marrom	marrom escuro	marrom muito escuro	negro	Negro (opaco)

Fonte: BARROS; GHESTI, 2016.

Em relação aos aromas, assim como a cor, são provenientes do processo de secagem e possível torra, podendo ser classificados como: aromas tostados (café, cacau, chocolate preto, amêndoas, torradas, frutas secas e pães); defumados (madeira, nozes e frutas, amêndoas, avelã, uva passa e baunilha); de malte (maltado-doce, marmelada e mel) e de caramelo (*toffee*, caramelos claros e escuros) (BARROS; GHESTI, 2016).

3.3.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira perene da família *Cannabaceae*, originária da Ásia. Essa espécie possui plantas masculinas e femininas, sendo que apenas esta última possui interesse industrial. Isso se deve a presença de glândulas de lupulina em sua

inflorescência (cones), as quais contêm óleos e resinas que caracterizam o aroma e amargor da cerveja (HARRISSON; ALBANESE, 2019; MACHADO; FARIA; FERREIRA, 2019; SPÓSITO, 2016).

As resinas do lúpulo contêm α -ácidos (humulonas), β -ácidos, e uma série de produtos de oxidação e polimerização, responsáveis pela característica de amargor na cerveja. Tal atribuição ocorre durante a ebulição do mosto adicionado do lúpulo. Os α -ácidos em seu estado natural são insolúveis e contêm pouco amargor. Porém quando aquecidos a 100 °C, isomerizam parcialmente em iso- α -ácidos, que por sua vez tornam-se solúveis e responsáveis pelo principal amargor da cerveja (LI; WANG; LIU, 2017; LEWIS, 2015; SPÓSITO *et al.*, 2019). Além disso, proporcionam propriedades bacteriostáticas e exercem grande efeito na capacidade de formação de espuma da cerveja (HARRISSON; ALBANESE, 2019; MACHADO; FARIA; FERREIRA, 2019).

Em contrapartida, os óleos essenciais são os responsáveis pelo caráter aromático do lúpulo e podem estar presentes entre 0,05% e 2% do peso da flor. Essa fração é formada por uma mistura complexa que contém mais de 300 tipos de compostos, compreendendo principalmente os hidrocarbonetos, da família dos terpenos, ésteres, aldeídos, cetonas, ácidos e álcoois (COELHO NETO *et al.*, 2020; LI; WANG; LIU, 2017).

Devido à grande variedade de produtos disponíveis, o lúpulo pode ser classificado e utilizado conforme suas características predominantes em: lúpulos aromáticos e de amargor (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016). Estes são adicionados em tempos diferentes da fervura garantindo a sua efetividade, de modo que lúpulos de amargor são adicionados ao começo da fervura possibilitando a isomerização dos α -ácidos e, lúpulos aromáticos adicionados ao final, garantindo que os aromas sejam anexados à bebida (LEWIS, 2015; SPÓSITO *et al.*, 2019).

Conforme Dragone *et al.* (2016), o teor de amargor atribuído ao lúpulo é expresso em termos de Unidade Internacional de Amargor (IBU), sendo que 1 IBU corresponde aproximadamente a 1 mg de iso- α -ácidos por litro de cerveja. O intervalo de amargor costuma ser entre 20 e 50 IBU, com algumas cervejas apresentando IBU ainda maiores.

3.3.4 Leveduras

A levedura é um microrganismo unicelular de aproximadamente 10 μm de diâmetro, pertencente ao Reino *Fungi*. No processo cervejeiro, exerce um papel fundamental uma vez

que transforma o mosto (extrato açucarado do malte) em cerveja, através da fermentação (LEWIS, 2015).

Dentre as condições que operam, as leveduras podem ser divididas em leveduras de alta fermentação (*Saccharomyces cerevisiae*) e leveduras de baixa fermentação (*Saccharomyces pastorianus* e *Saccharomyces carlsbergensis*) (WALTHER; HESSELBART; WENDLAND, 2014).

As leveduras de alta fermentação são utilizadas para produção de cervejas *Ale* e operam a um intervalo de 15 a 24 °C. Além disso, o nome remete-se a forma de fermentação, onde as leveduras tendem a flutuar no topo do tanque onde está ocorrendo o processo, o qual leva de três a cinco dias para acontecer. Em contrapartida, leveduras de baixa fermentação são utilizadas para a produção de cervejas *Lager*, representantes de 90% do mercado cervejeiro, na qual operam a uma temperatura inferior, 7 a 15 °C e o processo ocorre no fundo do tanque de fermentação entre sete e dez dias (BAMFORTH; COOK, 2019; DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016; LI; WANG; LIU, 2017). De acordo com Sorbo (2017), as cervejas *Lager* possuem sabores e aromas mais suaves quando comparadas às cervejas *Ale*, devido às baixas temperaturas utilizadas no processo fermentativo.

3.4 ETAPAS DA PRODUÇÃO DE CERVEJA

A produção da cerveja pode ser dividida em oito operações essenciais: moagem, mostura, fervura, fermentação, maturação, filtração, envase e pasteurização (COELHO NETO *et al.*, 2020).

A primeira etapa do processo cervejeiro corresponde à moagem do malte, que tem por objetivo facilitar a extração de açúcares e outras substâncias solúveis, através da separação da casca e do endosperma, permitindo seu melhor contato com a água. A moagem deve ser realizada de uma maneira que a casca seja mantida o mais íntegra possível, evitando sabores relacionados a taninos (amargo/adstringência) e o endosperma, seja moído, porém não chegue a pó, o que contribui para uma menor turbidez do produto final (BAMFORTH; COOK, 2019; COELHO NETO *et al.*, 2020).

Após a moagem, o malte é adicionado à água e submetido a um aquecimento gradual de 40 a 75 °C por tempos determinados, onde se tem a etapa de mostura. É nesta fase que as reações enzimáticas ocorrem. Como mostra o Quadro 3, à medida que se aumenta a temperatura, ocorre a decomposição de hemiceluloses e proteínas, por enzimas hemicelulases

e peptidases respectivamente, que envolviam o endosperma, deixando assim, seu conteúdo amiláceo exposto. Com isso, as enzimas dextrinases e amilases conseguem agir, degradando o amido (BAMFORTH; COOK, 2019; SORBO, 2017). De acordo com Bamforth e Cook (2019), quando o amido é aquecido, a ordem molecular dos grânulos é interrompida pelo processo de gelatinização, ocasionando a quebra das interações do amido e consequentemente, tornando-o suscetível à digestão enzimática.

QUADRO 3 - Temperaturas de ativação das enzimas presentes no malte de cevada.

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

Fonte: SORBO, 2017 (adaptado de TSCHOPE, 2001).

O tempo em que o sistema permanecerá em cada intervalo de temperatura dependerá da composição e do tipo de cerveja desejada. Após, cumprido o processo pré-estabelecido, são aplicadas temperaturas entre 76 e 78 °C para inativar as enzimas e sessar as reações (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016).

Ao final da mostura é realizada a filtração, com o objetivo de separar os resíduos de malte (bagaço) do mosto cervejeiro (ZARNKOW, 2014).

O mosto cervejeiro segue então para a etapa de fervura (60-90 minutos), a qual tem como principal objetivo a esterilização do líquido (HARRISON; ALBANESE, 2017). Neste momento, são adicionados os lúpulos, de amargor no começo da fervura e, aromáticos, ao final (LEWIS, 2015; SPÓSITO *et al.*, 2019).

Como efeito secundário, a fervura promove a precipitação das proteínas, prevenindo a turvação da cerveja e atua no desenvolvimento da cor (HARRISON; ALBANESE, 2017). Devido às elevadas concentrações de aminoácidos e carboidratos, combinados às altas temperaturas, ocorre a Reação de Maillard e consequente formação de melanoidinas, compostos responsáveis pela alteração da cor do mosto cervejeiro (GIBSON; NEWSHAM,

2018; LEA; PIGGOTT, 2011). A etapa seguinte é a fermentação, que se dá pela adição da levedura de interesse no mosto esterilizado e resfriado (GIBSON; NEWSHAM, 2018).

Na fermentação ocorre o consumo dos açúcares fermentescíveis, provenientes do malte, pelas leveduras. Isso ocasiona a multiplicação celular e paralelamente o aumento de sua massa no meio. Conseqüentemente, grande parte dos açúcares são convertidos em álcool e dióxido de carbono. No entanto, durante a fermentação, desenvolvem-se também vários compostos secundários, desejáveis ou não (*off flavours*), os quais contribuem com a caracterização da cerveja (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016; LEWIS, 2015). Entre estes compostos encontram-se os ésteres, fenóis, ácidos graxos e álcoois superiores, responsáveis muitas vezes pelo sabor e aroma do produto final (COELHO NETO *et al.*, 2020).

Após a fermentação, tem-se a chamada cerveja verde, que contém uma baixa carbonatação, é turva e seu aroma e sabor são inferiores se comparados à cerveja pronta para a comercialização. Além disso, apresenta grande número de leveduras inativas/mortas. Para refinar tais características, remover *off-flavours* e compostos indesejados, é realizada a maturação nesta etapa do processo (GIBSON; NEWSHAM, 2018). De acordo com Dragone *et al.* (2016), este processo permite que leveduras ainda ativas, continuem a produzir CO₂, aumentando assim a carbonatação e eliminando compostos voláteis indesejáveis.

A maturação consiste no condicionamento da bebida (maturador), por um determinado período de tempo, que varia de acordo com o tipo de fermentação. Cervejas *Lager*, ou seja, de baixa fermentação, necessitam de um tratamento de longo período, correspondente a meses ou semanas, enquanto cervejas *Ale*, de alta fermentação, necessitam de um período de tempo menor (GIBSON; NEWSHAM, 2018).

Na sequência, a cerveja é filtrada para que sejam removidas leveduras que ainda restam no líquido, resultando em uma bebida mais brilhante e transparente (LEA; PIGGOTT, 2011).

Outros tratamentos podem ser aplicados a fim de correção e acabamento da bebida alcoólica, como por exemplo, a carbonatação. O dióxido de carbono (CO₂) é um constituinte muito importante da cerveja, responsável pela efervescência e sensação de acidez deixada na boca. A sua adição pode ser realizada pela injeção do próprio CO₂ (carbonatação forçada), ou adição de uma quantidade de açúcares na bebida (carbonatação natural), durante o envase, iniciando-se uma nova fermentação (COELHO NETO *et al.*, 2020; DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2016).

Após a filtração ou eventual tratamento, a cerveja está pronta e pode seguir para o envase. Neste processo, são utilizados normalmente recipientes metálicos (latas de alumínio ou barris de aço inox) ou garrafas de vidros (HARRISON; ALBANESE, 2017).

Por fim, conforme Dragone *et al.* (2016), as cervejas devem ser tratadas termicamente, com o objetivo de eliminar quaisquer leveduras cervejeiras residuais, leveduras selvagens ou bactérias contaminantes presentes. Este tratamento térmico corresponde à pasteurização, que consiste na utilização de calor e rápido resfriamento respectivamente, resultando em um produto com uma vida de prateleira maior (COELHO NETO *et al.*, 2020).

A forma de obtenção da cerveja e do *chopp* é muito semelhante, diferenciando pontualmente no tratamento térmico em que a cerveja é submetida (COELHO NETO *et al.*, 2020).

Embora o processo descrito acima seja aplicável à obtenção de todos os tipos de cervejas, suas particularidades, bem como variáveis de produção, devem ser levadas em conta. Com isso, obtêm-se uma grande diversidade de bebidas, seja em relação à cor, teor alcoólico, amargor, corpo, sabor e/ou aroma (LEA; PIGGOTT, 2011). Além do mais, a possibilidade de se explorar e incorporar diferentes ingredientes como matérias-primas, possibilita a criação de infinitos perfis, sabores e identidades, contribuindo assim, com o desenvolvimento da arte cervejeira.

3.5 O ZIMBRO COMO MATÉRIA-PRIMA

O zimbro, *Juniperus communis* (família *Cupressaceae*), é uma planta conífera perene nativa no hemisfério norte, sendo encontrado principalmente na Europa e na América do Norte. Embora possa se apresentar como uma pequena árvore, normalmente é encontrada na forma de arbustos, contendo menos de dois metros de altura (LOŽIENĚ; VENSKUTONIS, 2016; RIU-AUMATELL, 2016).

O *Juniperus communis* possui grande interesse comercial devido à utilização de suas bagas. Na verdade são pseudofrutos, pois estruturalmente trata-se de um gálbulo, ou seja, um estróbilo típico de coníferas onde suas camadas estão profundamente modificadas e transformadas em estruturas carnudas e coalescentes, o que os transformam em pseudo-bagas (CASTRO *et al.*, 2011; FIGUEIREDO *et al.*, 2014).

As bagas possuem formato esférico com lados irregulares, onde inicialmente possuem coloração verde. Porém, após dezoito meses de maturação apresentam-se escuras, cor roxa-azulada, estando prontas para serem colhidas (RIU-AUMATELL, 2016).

Embora seu sabor e odor sejam mais pronunciados logo após a colheita, são normalmente utilizadas secas, onde a intensidade destes atributos diminui durante o processo de secagem e armazenamento subsequente (RIU-AUMATELL, 2016).

Todas as espécies do gênero *Juniperus* produzem este tipo de pseudo-bagas, porém a maioria não é destinada para consumo humano devido ao seu alto amargor (ADAMS, 2004).

As bagas de zimbro são comumente utilizadas como medicamento tradicional, em aromaterapia e pela indústria farmacêutica. Mas é a aplicação na indústria alimentícia que o zimbro se destaca, sendo utilizado como condimento, tempero, conservante de carnes e principalmente como aromatizante em bebidas, em especial, o gin (GALEGO, 2015; GARI *et al.*, 2020; GUERRA, 2014; LOŽIENĖ; VENSKUTONIS, 2016; OSMA, 2020; VICHI *et al.*, 2007).

O principal motivo da utilização das bagas se deve especialmente ao seu óleo essencial. O óleo de *Juniperus* é um importante produto natural conhecido como fonte de compostos bioativos. Os terpenos, monoterpenos e sesquiterpenos, contribuem com até 60% do seu conteúdo e determinam as características fortes e distintas de aroma, bem como propriedades antibacteriana e antifúngica. Os principais compostos do óleo essencial de *Juniperus communis* são δ -3-careno, α -pineno, β -pineno, sabineno, β -felandreno, mirceno, limoneno e D-germacreno (FOUDIL-CHERIF; YASSAA, 2012; LOŽIENĖ; VENSKUTONIS, 2016; OSMA, 2020).

Pandey *et al.* (2018) estudando sobre o potencial antioxidante e anti-envelhecimento do óleo essencial de zimbro (*J. communis* L.), sobre o *Caenorhabditis elegans*, comprovaram que os microrganismos tratados com o óleo mostraram 30,4% a mais de sobrevivência sob estresse térmico em comparação ao controle. Além disso, também foi observada a expressão elevada de SOD-3 – superóxido dismutase 3 (39,49%) e GST-4 – Glutathione S-transferase (25,13%), indicando resistência ao estresse oxidativo.

Lesjak *et al.* (2014), da mesma forma investigaram o óleo essencial de zimbro e verificaram seu potencial atividade antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana, incentivando seu uso na fabricação de alimentos e bebidas. Semelhantemente, Taveres e pesquisadores (2012) indicaram em seus estudos a utilização de bagas de zimbro na fabricação de alimentos funcionais e/ou ingredientes alimentares funcionais, devido a sua alta bioatividade.

Šojić *et al.* (2017) avaliaram a adição do óleo essencial de zimbro em linguiça de porco cozida. Os resultados se demonstraram positivos, uma vez que diminuiu a formação de radicais e inibiu o crescimento de bactérias mesófilas aeróbias totais. Resultado semelhante foi observado por Vasiljević *et al.* (2019), ao adicionarem o óleo essencial em carne marinada com vinho.

Ainda que as bagas de zimbro apresentem todas estas propriedades, sua maior utilização é voltada para a aromatização de bebidas alcólicas. Através do gin, este condimento ganhou destaque mundial, o qual atribui-se a ele o sabor e aroma característico da bebida (GARI *et al.*, 2020). Além do mais, o Borovička, também conhecido como conhaque de zimbro, é um bebida alcóolica eslovaca que utiliza as bagas como principal fonte do seu perfil aromático (SALAMON; OTEPKA, 2018).

Apesar de já existirem marcas de cervejas adicionadas de zimbro, há carência de estudos sobre a sua incorporação na bebida. Neste contexto, o objetivo deste estudo é elaborar uma cerveja estilo APA (*American Pale Ale*) adicionada de zimbro e avaliar seus parâmetros físico-químicos e sensoriais, bem como caracterizá-la através da comparação com o estilo de cerveja já existente no mercado.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

As matérias-primas utilizadas para a produção da cerveja como malte de cevada moído *Pale Ale* e *Munich* (Agrária), lúpulo *Cascade* e *Columbus em pellets* (LNF), levedura liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* (Safale US-05 – Fermentis) (GAMBA, 2016), água mineral (pH 6,15 a 25 °C, bicarbonato 36,18 mg/L, cálcio 5,255 mg/L, sulfato 0,56 mg/L, cloreto 2,68 mg/L, magnésio 1,763 mg/L) (Font® Life) e zimbro (*Juniperus communis*) em grãos foram adquiridas em revenda de insumos para cervejeiros artesanais na cidade de Ponta Grossa/PR.

As amostras comerciais de cervejas analisadas foram adquiridas em rede de supermercados na região do Município de Ponta Grossa/PR e estão indicadas no quadro 4:

QUADRO 4 - Cervejas APA comerciais classificadas de acordo com a rotulagem.

Codificação da marca comercial	Classificação
D	Cerveja Extra Clara
E	Cerveja Puro Malte
F	Cerveja Puro Malte
G	Cerveja Puro Malte – Extra Pale Ale
H	Cerveja Puro Malte

Fonte: O autor.

4.2 MÉTODOS

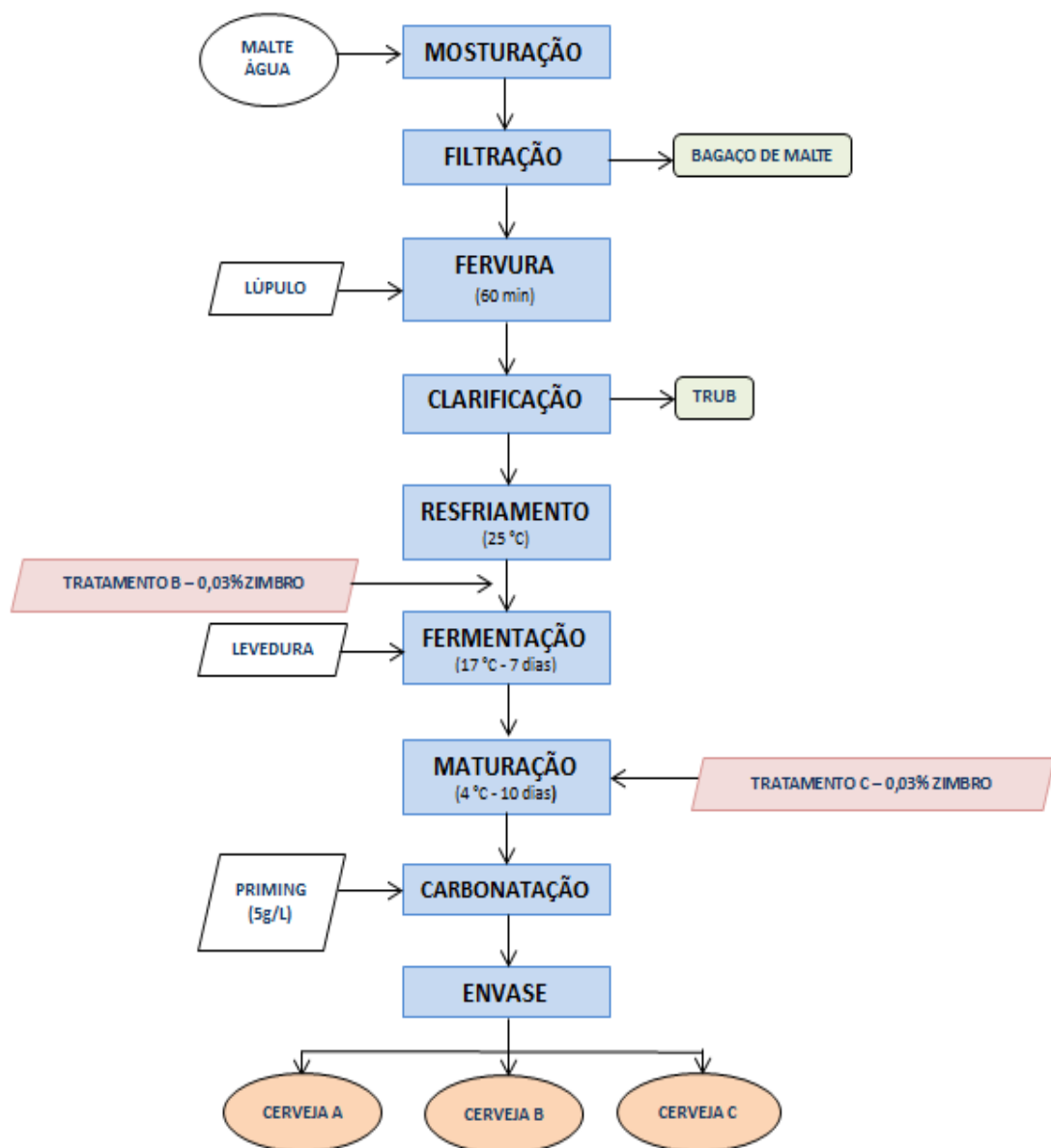
4.2.1 Planejamento Experimental

Primeiramente foram realizados testes preliminares para determinar a concentração ideal e o momento da adição do zimbro durante o processamento da cerveja (início e fim da fervura, fermentação e maturação). Em seguida, os ensaios de produção de cerveja foram realizados em três tratamentos: a cerveja artesanal do estilo *American Pale Ale* (controle – A), a formulação adicionada de zimbro na etapa de fermentação (B) e a formulação adicionada de zimbro na etapa de maturação (C). Os parâmetros físico-químicos (5.2.3) e a atividade antioxidante (5.2.4) das formulações produzidas foram comparados com as cervejas comerciais (Quadro 4).

4.2.2 Processamento da Cerveja

As cervejas estilo *American Pale Ale* foram produzidas e caracterizadas no Centro de Tecnologia Agroalimentar (CTA), do departamento de Engenharia de Alimentos, pertencente à Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Paraná. O processamento das cervejas artesanais foi realizado em batelada, seguindo a metodologia adaptada de Maia *et al.* (2020) (Figura 3).

FIGURA 3 - Fluxograma do processamento das cervejas artesanais estilo *American Pale Ale* adicionadas de zimbro (B e C) e controle (A).



Fonte: O autor.

Para a produção da cerveja artesanal, utilizou-se 26 L de água, e os demais insumos foram adicionados de acordo com a Tabela 2. Primeiramente, 3,100 kg de malte moído do tipo *Pale Ale* e 0,338 kg de Malte *Munich* foram misturados a 12L de água mineral previamente aquecida a 65 °C dando início à etapa de mosturação. O método utilizado foi o *brewing in a bag* (BIAB). A mistura foi mantida em uma temperatura controlada de 63 °C por 60 min e em seguida elevada para 67 °C, onde permaneceu por 30 min. Nessa etapa, realizou-se o teste de iodo (DUARTE, 2015) e confirmando-se a sacarificação do amido, a temperatura foi elevada a 78 °C, mantendo-se por 10 min para que ocorresse a inativação enzimática do mosto. O mosto foi então adicionado de 14L de água de lavagem e separado do bagaço do malte através da filtração por gravidade.

Após a filtração, o mosto foi aquecido até a ebulição à pressão atmosférica durante 60 min e adicionado de lúpulo. No início da fervura, foi adicionado 0,0075 kg do lúpulo *Columbus* em pellets, para conferir amargor a cerveja. Após 30 min, adicionou-se 0,0075 kg do lúpulo *Cascade*® (amargor e aroma) e após 45 min de fervura, mais 0,015 kg do lúpulo *Cascade*® (aroma) foram adicionados. Ao final da fervura, ocorreu a clarificação onde o mosto foi agitado vigorosamente no sentido anti-horário com a pá cervejeira fazendo o movimento de vortex onde permaneceu em repouso para a formação do trub (material sedimentado). Enquanto isso realizou-se o resfriamento do mosto a 25 °C utilizando-se um *chiller* espiral.

TABELA 2 - Formulação da cerveja artesanal

Insumos	Matérias-primas	Porcentagem (%)
Água mineral	26 L	100
Malte <i>Pale Ale</i>	3,1000 kg	11,9
Malte <i>Munich</i>	0,3380 kg	1,3
Lúpulo <i>Columbus</i>	0,0075 kg	0,03
Lúpulo <i>Cascade</i>	0,0225 kg	0,09

Fonte: O autor.

O volume total de mosto foi dividido e trasfegado em três fermentadores (recipientes plásticos), sendo identificados como A, B e C. Em um dos fermentadores (Formulação B) adicionou-se 0,03% (m/v) de zimbro previamente triturado em um almofariz, utilizando um pistilo. Em seguida, os fermentadores foram inoculado com 0,0022 kg de levedura cervejeira de alta fermentação da espécie *Saccharomyces cerevisiae* previamente hidratada. Os

fermentadores foram fechados e acoplados dos *airlocks* (dispositivo que permite que o CO₂ e outros gases produzidos durante a fermentação sejam eliminados, sem que haja a entrada de oxigênio e microrganismos no fermentador) (GAMBA, 2012), para iniciar o processo de fermentação a uma temperatura controlada de 17 °C por sete dias, em uma incubadora B.O.D. (SPLABOR – SP-500).

Na sequência, iniciou-se a etapa de maturação, onde foi adicionado 0,03% de zimbro triturado na formulação C. Os fermentadores foram armazenados sob temperatura controlada de 4 °C por 10 dias.

Após o término do período de maturação, realizou-se o *priming*, no qual 0,005 kg/L de sacarose foi adicionada e homogeneizada nas cervejas sem que ocorresse muita agitação. As cervejas foram envasadas e fechadas com tampas metálicas com o auxílio de uma recravadeira manual, em garrafas âmbar com capacidade de 600 mL, previamente lavadas e higienizadas com sanitizante sem enxágue à base de iodo (0,1% v/v). As garrafas foram mantidas 7 dias a temperatura ambiente (25 °C) para carbonatação, por meio da fermentação do açúcar, por ação das leveduras remanescentes. Por fim, as garrafas foram armazenadas sob temperatura de refrigeração (5 °C) por três dias, até a realização das análises.

4.2.3 Análises Físico-Químicas

A produção das cervejas foi controlada durante o processo após a fervura dos mostos, através da medida do pH e densidade inicial (OG) e com 24 horas de fermentação, através da medida do pH, densidade e teor alcoólico.

As cervejas prontas A, B e C e as comerciais foram descarbonatadas para a realização das análises. Para remover o CO₂ as amostras foram transferidas para um béquer de 500 mL e levadas a um banho ultrassônico (UltraSonic Cleaner, USC 1400) por 15 min – 40 kHz. As amostras foram analisadas a uma temperatura de 20-25 °C de acordo com os seguintes parâmetros:

4.2.3.1 Determinação do teor alcoólico

O teor alcoólico foi determinado por meio do ebulliômetro. A calibração do equipamento foi realizada com água destilada e a temperatura de ebulição marcada na escala do ebulliômetro. Foram adicionados 25 mL de amostra na câmara do ebulliômetro, onde acoplou-se o termômetro e preencheu-se a caldeira com água destilada. Em seguida,

aproximou-se a lamparina acesa do equipamento e aguardou-se a amostra atingir a temperatura de ebulição observando-se no termômetro. A temperatura de ebulição foi marcada na escala do ebulliômetro e feito a leitura do teor alcóolico (% v/v) de cada amostra (ALVES, 2014).

4.2.3.2 Determinação do extrato real

As análises de Extrato Real das cervejas foram realizadas de acordo com IAL (2008) com pequenas adaptações. Foram adicionados 20 mL de cada amostra em cápsulas de alumínio previamente aquecidas em estufa (100 ± 5)°C por uma hora, resfriadas em dessecador e pesadas. As amostras foram evaporadas em estufa de ar circulante a 70 °C por 12 horas e levadas a estufa de secagem a (100 ± 5)°C por uma hora. Em seguida, as cápsulas de alumínio foram resfriadas em dessecador e pesadas. O Extrato Real (%m/v) foi determinado através da Equação 1:

$$\text{Extrato Real} = \frac{\text{Massa do resíduo} \times 100}{\text{Volume da amostra}} \quad (1)$$

4.2.3.3 Determinação do extrato aparente

Cerca de 100 mL de amostra foram filtradas em um erlenmeyer. Determinou-se a densidade relativa a 20 °C utilizando-se um densímetro de bancada e converteu-se o valor para extrato aparente através de tabela de conversão (IAL, 2008).

4.2.3.4 Determinação do extrato primitivo

O extrato primitivo das amostras foi determinado através da Equação 2 (%m/m), de acordo com IAL (2008):

$$\text{Extrato Primitivo} = \frac{[(\% \text{ de álcool em peso} \times 2,066) + \% \text{ de extrato real}] \times 100}{[100 + (\% \text{ de álcool em peso} \times 1,066)]} \quad (2)$$

4.2.3.5 Determinação da acidez total

Foram transferidas 50 mL de amostra para um Erlenmeyer de 250 mL e adicionado 0,5 mL de fenolftaleína. Titulou as amostras com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1

N até coloração rósea. Utilizando um pHmetro digital (Gehaka, PG1800) acompanhou-se o ponto de viragem (pH 8,2). Os resultados foram expressos em g de ácido acético por 100 mL de amostra, de acordo com a Equação 3 (IAL, 2008):

$$Acidez\ total = \frac{n \times M \times f \times PM}{10 \times V} \quad (3)$$

Onde:

n = volume (mL) de NaOH gasto na titulação

M = molaridade da solução de NaOH

f = fator de correção da solução de NaOH

PM = peso molecular do ácido acético (60g/mol)

V = volume de amostra (mL)

4.2.3.6 Determinação de amargor

Para determinar o amargor, um volume de 10 mL das cervejas descarbonatadas foram pipetados em tubos de centrífuga de 35 mL e adicionados de 0,5 mL de ácido clorídrico (HCl 6 N), seguido de 20 mL de iso-octano. Os tubos foram agitados em agitador mecânico por 15 minutos e centrifugados (3000 rpm por 5 minutos). O sobrenadante foi lido em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240 no comprimento de onda de 275 nm em cubeta de quartzo de 10 mm, sendo utilizado iso-octano puro como branco, conforme metodologia adaptada de Kawa-Rygielska *et al.* (2019). O amargor foi calculado pela Equação 4 e expresso em unidades de amargor (B.U):

$$Amargor = Abs\ 275\ nm \times 50 \quad (4)$$

4.2.3.7 Determinação de cor

A verificação da cor foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240 de acordo com Humia *et al.* (2020) com pequenas adaptações. As amostras foram diluídas em água (1:1) e em seguida, realizada a leitura da absorbância a 430 nm, com o uso de uma cubeta de quartzo de 10 mm. Utilizou-se água destilada como branco. O resultado foi expresso em EBC (*European Brewing Convention*) utilizando a Equação 5:

$$Cor = Abs\ 430\ nm \times fator\ de\ diluição \times 25 \quad (5)$$

4.2.3.8 Determinação de pH

Os valores de pH das amostras foram determinados em pHmetro digital (Gehaka, PG1800), conforme Adamenko, Kawa-Rygielska e Kucharska (2020).

4.2.3.9 Determinação da turbidez

A turbidez foi determinada em um espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240 através da medida da transmitância da luz (T) a 640 nm. Água destilada foi utilizada como branco (YU *et. al.*, 2020). Os resultados foram expressos em % transmitância.

4.2.4 Atividade Antioxidante

4.2.4.1 Inibição do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

A inibição do radical DPPH foi determinada de acordo com Humia *et al.* (2020) com adaptações. As amostras foram diluídas em água (1:10) e em seguida adicionadas (1 mL) em um tubo de ensaio juntamente com 3 mL de solução etanólica de DPPH 60 µM. A mistura permaneceu em repouso por 15 minutos, e em seguida foi medida a absorvância em espectrofotômetro (UV-VIS Shimadzu 1240) a 517 nm utilizando cubetas de quartzo de 10 mm. Os resultados foram expressos em mmol Trolox por L de cerveja ($y = -6,2 \cdot 10^{-4}x + 1,04124$, $R^2 = 0,9889$).

4.2.4.2 Teste do radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

O método consiste em avaliar a capacidade que os compostos presentes nas cervejas apresentam em capturar o radical ABTS^{•+} pelo método descrito por Re *et al.* (1999).

O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir de uma mistura de solução de persulfato de potássio (2,46 mmol/L) com solução de ABTS (7 mmol/L) e mantido sob abrigo de luz à temperatura ambiente por 16 horas. Após esse período, a solução foi diluída com água até absorvância próxima a 0,700. O branco foi realizado com água destilada. As amostras foram

diluídas (1:10) e em seguida adicionadas (0,1 mL) em tubos em ensaio juntamente com 1,4 mL da solução ABTS⁺. Após 6 minutos de reação sob abrigo de luz, a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1240 a 734 nm utilizando cubetas de quartzo de 10 mm. Os resultados foram expressos em mmol Trolox/L ($y = -1,2 \cdot 10^{-3}x + 0,4975$, $R^2 = 0,9988$).

4.2.5 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos da UEPG, mediante aprovação do Comitê de Ética de Pesquisas com Seres Humanos (COEP 4.741.157). Os avaliadores não treinados entre funcionários, estudantes e qualquer outra pessoa que tivesse interesse e disponibilidade, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participar da pesquisa (Apêndice 1).

Foram servidos aproximadamente 50 mL de cada amostra a 5 °C em mini taças de acrílico codificadas com números aleatórios de 3 dígitos, sendo os códigos 314, 197 e 205 correspondentes as formulações A, B e C, respectivamente. Cada avaliador analisou as amostras individualmente através de uma ficha de avaliação (Apêndice 2), em uma cabine sob luz branca. As amostras foram provadas e avaliadas quanto à aceitação dos atributos de impressão global, cor, sabor, aroma, amargor e aparência utilizando a escala hedônica de 9 pontos (1-desgostei muitíssimo, 2-desgostei muito, 3-desgostei moderadamente, 4-desgostei ligeiramente, 5-não gostei, nem desgostei, 6-gostei ligeiramente, 7-gostei moderadamente, 8-gostei muito e 9-gostei muitíssimo). Além disso, os avaliadores caracterizaram as amostras através de um *check list* (*Check-all-that-apply* – CATA), assinalando todos os termos considerados apropriados para descrever as amostras.

4.2.6 Análise Estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os dados foram apresentados como média±desvio padrão, sendo realizado teste de Levene para avaliar sua homogeneidade, considerando paramétrico o valor de $p > 0,05$. Em seguida, os dados paramétricos foram analisados pela Análise de Variância (ANOVA) ($p < 0,05$), complementada com o teste de comparação de médias de Fischer LSD. Foi realizada Análise de Componentes Principais para

observar as possíveis correlações entre os parâmetros físico-químicos, atividade antioxidante e os tipos de cerveja.

Em relação à análise sensorial, a aceitabilidade das amostras foi apresentada como média±desvio padrão e os dados paramétricos analisados pela Análise de Variância (ANOVA) complementada com o teste de comparação de médias de Fischer LSD. Os dados do CATA foram analisados primeiramente através de análise de correspondência, onde somente atributos com frequências maiores que 20% foram considerados. Para verificar quais os atributos se correlacionam melhor com cada amostra, os dados foram submetidos ao teste Q de Cochran, apresentando as diferenças significativas entre atributos, com $p < 0,05$. Através do gráfico da Análise de Correspondência (AC) foi possível caracterizar as amostras com base nos dados obtidos dos consumidores (MEYNER *et al.*, 2013).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE O PROCESSAMENTO

O acompanhamento de alguns parâmetros durante a fabricação de cervejas é muito importante para controlar e garantir a qualidade do produto final. Entre esses parâmetros está a densidade, pH e concentração de etanol.

Na produção das cervejas em estudo, o mosto após o resfriamento apresentou uma densidade inicial (OG) de 1,045 e pH de 5,55. Já na fermentação, os parâmetros foram verificados 24 h após a inoculação, onde observou-se uma densidade de 1,037, pH de 5,26 e 0,62% de etanol, levando em consideração a média das amostras.

A OG está correlacionada com a concentração de açúcar no mosto e, conseqüentemente, com o teor de álcool no produto final (KOURTI, 2005). Com o passar do tempo, a densidade da bebida diminuiu em razão do consumo desses açúcares pelas leveduras levando a gradativa formação de etanol (GAMBA, 2016). A BJCP – *Beer Judge Certification Program*, que contempla as diretrizes de estilo para produção de cerveja, indica para a fabricação de uma cerveja estilo *American Pale Ale*, uma OG entre 1,045 e 1,060.

Da mesma forma, com o acompanhamento do pH ao longo do processamento até o produto final, observa-se que este foi diminuindo gradativamente, variando 21,80, 22,50 e 21,98% para as formulações A, B e C, respectivamente. Tal fato está relacionado aos ácidos orgânicos que são produzidos durante a fermentação alcoólica. Segundo Hardwick (1995), estes ácidos elevam a acidez da cerveja contribuindo assim com o aroma e sabor agradável ao consumo.

5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS CERVEJAS

Após o resfriamento dos produtos acabados, as cervejas apresentavam-se como mostra a Figura 4:

FIGURA 4 - Cervejas Artesanais Estilo *American Pale Ale*.

FONTE: O autor. *A – amostra controle, B – Adicionada de 0,03% de zimbros na etapa de fermentação e C – Adicionada de 0,03% de zimbros na etapa de maturação.

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de cervejas produzidas em escala laboratorial (A, B e C) estão dispostos na Tabela 3. Entre os parâmetros analisados, o extrato real, pH, cor, turbidez e amargor apresentaram diferença significativa entre as amostras.

TABELA 3 - Análises físico-químicas das cervejas produzidas em escala laboratorial.

Parâmetros Analíticos	A	B	C	p
Teor Alcoólico (%v/v)	4,58±0,20	4,50±0,33	4,42±0,13	ns
Extrato Primitivo (%m/m)	10,64±0,29	10,47±0,46	10,09±0,26	ns
Extrato Aparente (%m/m)	1,35±0,00	1,35±0,00	1,35±0,00	ns
Extrato Real (%m/v)	3,58±0,02 ^a	3,54±0,03 ^b	3,52±0,01 ^b	0,03
pH*	4,35±0,01 ^a	4,30±0,01 ^c	4,33±0,01 ^b	<0,01
Acidez Total % (m/v)	0,10±0,01	0,10±0,00	0,10±0,00	ns
Cor (EBC)	23,10±0,18 ^a	19,11±0,59 ^c	21,07±0,56 ^b	<0,01
Turbidez (%)	64,57±0,15 ^c	76,03±0,15 ^a	75,50±0,10 ^b	<0,01
Amargor (B.U)	15,20±0,87 ^b	18,53±1,67 ^a	17,63±1,06 ^a	0,04

Nota: * adimensional; ^{abc} Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (Fisher LSD, $p < 0,05$); ns: não houve diferença significativa. Cerveja A (controle), B (adicionada de zimbros na etapa de fermentação) e C (adicionada de zimbros na etapa de maturação).

A Legislação Brasileira (BRASIL, 2019) define que para a bebida ser considerada “cerveja”, deve conter um teor alcoólico superior a 2%. Em adição, a BJCP (2021), indica que cervejas estilo *American Pale Ale* devem ter seu teor alcoólico compreendido entre 4,5-6,2%. Logo, as cervejas A e B atendem as condições citadas acima, enquanto a cerveja C atende apenas a legislação brasileira, mesmo o teor alcoólico estando muito próximo ao exigido pela diretriz.

Em relação ao extrato primitivo, que é a quantidade de substâncias dissolvidas do mosto que deu origem à cerveja, a legislação prescreve que seu valor deve ser sempre maior ou igual a 5% em peso (BRASIL, 2021). Como as formulações apresentaram um extrato primitivo médio de 10,4% pode-se dizer que estas atendem a exigência, podendo ainda serem classificadas como “puro malte” devido a procedência do seu extrato.

Em contrapartida, o extrato real corresponde a todos os sólidos que fazem parte da composição da cerveja e está relacionado com o corpo da bebida (TOZZETO, 2017). Neste estudo, o parâmetro variou entre as amostras ($p=0,03$) sendo que as formulações B e C apresentaram extrato real médio inferior (3,53%) à formulação A (3,58%) indicando a influência do zimbro sobre o parâmetro. Corroborando com os resultados, Ducreat *et al.* (2017) se depararam com a mesma condição ao avaliarem o efeito de *goji berries* sobre o conteúdo de compostos bioativos em cervejas estilo *Amber Ale*. Segundo os autores, o momento da adição da *goji berries* influenciou nos resultados, uma vez que a matéria-prima adicionada na fermentação e maturação gerou uma menor extração de seus compostos, como polissacarídeos, se comparado à adição na fervura, resultando consequentemente em um menor valor do extrato real.

Da mesma maneira o pH variou significativamente ($p<0,01$) entre as amostras, de modo que seu valor diminuiu com a adição de zimbro. A formulação adicionada da especiaria durante a fermentação (B), foi a que apresentou um pH mais baixo (4,30), variando cerca de 1,15% em relação a amostra controle - 4,35 (A). O pH tem grande importância na cerveja, pois influencia em vários fatores, como crescimento microbiano, intensidade de cor, atividade enzimática, potencial de oxirredução e sabor (OLIVEIRA, 2011). Apesar do pH apresentar uma relação inversamente proporcional com a acidez total, esta não apresentou diferença significativa entre as amostras (0,10% m/v).

De acordo com BJCP (2021), as cervejas do estilo *American Pale Ale* apresentam uma cor que varia do dourado a âmbar claro, sendo compreendida entre 10 e 20 EBC. Dentre as cervejas produzidas, apenas a formulação B apresentou esta característica (19,11 EBC), sendo a sua cor categorizada como estando entre âmbar profundo a cobre. As cervejas A e C

apresentaram 23,10 e 21,07 EBC, respectivamente, sendo as suas cores categorizadas como cobre. Gamba (2016), também observou uma coloração mais escura em cervejas do estilo *American Pale Ale* ao adicionar pimenta rosa em sua formulação. O mesmo efeito foi relatado por Oliveira *et al.* (2021) ao adicionarem adjuntos cervejeiros regionais e flores comestíveis em cervejas do mesmo estilo.

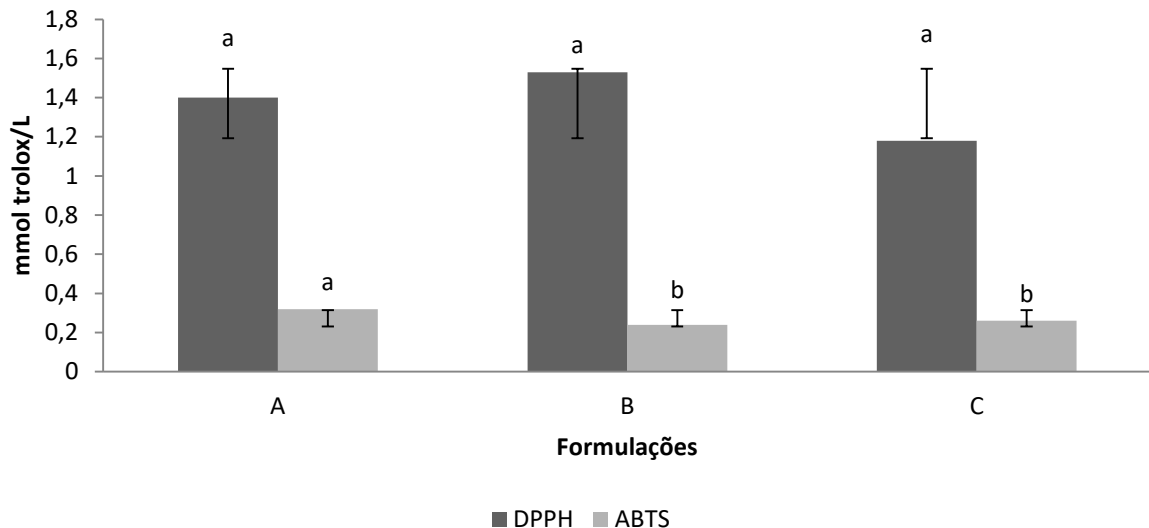
As cervejas estilo *American Pale Ale* na maioria das vezes são bastante límpidas (BJCP, 2021). A turbidez das cervejas em estudo foi avaliada através da transmitância, sendo inversamente proporcional ao seu valor, ou seja, quanto menor a transmitância, maior a turbidez. Analisando os resultados, observou-se que o parâmetro variou ($p < 0,01$) entre as amostras de modo que, a adição de zimbro interferiu na turbidez, deixando as cervejas mais límpidas. A formulação em que foi adicionado zimbro na fermentação (B) apresentou-se 17,8% mais límpida que a formulação controle (A) e 0,7% mais límpida se comparado à formulação C, onde adicionou-se a especiaria na maturação. Acredita-se que assim como ocorreu no estudo da adição de *goji berries* (DUCRUET *et al.*, 2017), é possível que os polifenóis liberados do zimbro, combinados com o baixo pH, levaram a floculação e consequente precipitação das proteínas responsáveis pela turbidez da bebida, tornando-a mais límpida (STEINER; BECKER; GASTL, 2010).

Por sua vez, o parâmetro de amargor avaliado nas cervejas variou significativamente ($p = 0,04$) entre as amostras de modo que, a adição de zimbro tornou as bebidas mais amargas. As formulações B e C apresentaram-se 19% mais amargas (18,08 B.U) que a formulação controle (15,20 B.U), sendo que a etapa do processamento em que o zimbro foi adicionado não interferiu na característica estudada. Acredita-se que o efeito obtido está relacionado com a composição do zimbro, sendo que algumas espécies podem ser bem amargas (ADAMS, 2004). Apesar disso, se comparado com a BJCP (2021), todas as cervejas ficaram com o amargor abaixo do ideal, sendo que as diretrizes determinam para cervejas estilo *American Pale Ale* um valor entre 30-50 B.U. De maneira análoga, os pesquisadores Hayward; Wedel e McSweeney (2019) se depararam com o aumento do amargor ao produzir cervejas adicionadas de dente-de-leão, urtiga e sálvia. No entanto, Filho *et al.* (2021) não observaram diferença significativa no parâmetro de amargor ao adicionar cúrcuma (14,61 B.U) e cúrcuma com pimenta preta (29,91 B.U) em cervejas do estilo *Red Ale*.

5.3 ANÁLISE DO PERFIL ANTIOXIDANTE

O perfil antioxidante das cervejas produzidas em escala laboratorial foi determinado pelos métodos de DPPH e ABTS, sendo os resultados apresentados na Figura 5.

FIGURA 5 - Análises do perfil antioxidante das cervejas produzidas em escala laboratorial pelos métodos DPPH e ABTS.



Nota: ^{abc}Letras diferentes nas colunas de DPPH e ABTS indicam diferença significativa entre as amostras.

A atividade antioxidante não apresentou diferença significativa quando avaliada pelo método de inibição do radical DPPH. Em contrapartida no ensaio de inibição do radical ABTS foi possível observar uma maior atividade antioxidante ($p < 0,01$) para a cerveja sem adição de zimbro. A atividade antioxidante variou entre 0,32 mmol T/L da amostra controle para 0,25 mmol T/L das amostras adicionadas de zimbro.

Ao contrário do que se esperava o zimbro não aumentou a capacidade antioxidante das cervejas, na concentração utilizada neste estudo. O zimbro é uma especiaria que possui alto poder antioxidante, porém os compostos em interesse são provenientes do seu óleo essencial (LOZIENE, VENSKUTONS, 2016). Em vários trabalhos que empregaram zimbro com o intuito de avaliar a atividade antioxidante (EMAMI; ABEDINDO; HASSANZADEH-KHAYYAT, 2011; HOFERL *et al.*, 2014; LESJAK *et al.*, 2014; PANDEY *et al.*, 2018; ŠOJÍĆ *et al.*, 2017; VASILJEVIĆ *et al.*, 2019), foi usado o seu óleo essencial extraído. Como neste estudo, utilizou-se o fruto moído, não passando por nenhuma etapa de extração do óleo, pode-se dizer que o efeito foi minimizado, em decorrência do modo de preparação do ingrediente, bem como a baixa concentração utilizada.

Além disso, devido aos compostos presentes nos maltes escuros, as cervejas tipo *Ale* geralmente tem uma capacidade antioxidante maior que as *Lagers*, sendo intensificada proporcionalmente à coloração da cerveja (FILHO *et al.*, 2021). Como as cervejas adicionadas de zimbros mostraram-se com coloração mais clara e límpidas, conseqüentemente seu potencial antioxidante também apresentou-se menor.

5.4 COMPARAÇÃO DAS CERVEJAS PRODUZIDAS COM MARCAS COMERCIAIS

As cervejas produzidas neste estudo foram comparadas com marcas comerciais de cervejas estilo *American Pale Ale*. Para tanto, foram utilizados os valores médios dos parâmetros analíticos das 5 marcas comerciais. Os resultados encontram-se na Tabela 4.

TABELA 4 - Comparação entre os parâmetros físico-químicos e atividade antioxidante das cervejas produzidas (A, B e C) e a média das cervejas comerciais (COM).

Parâmetros Analíticos	A	B	C	COM	p
Teor Alcoólico (%v/v)	4,58±0,20	4,50±0,33	4,42±0,13	5,23±1,14	ns
Extrato Primitivo (%m/m)	10,64±0,29 ^b	10,47±0,46 ^b	10,09±0,26 ^b	12,21±1,36 ^a	<0,05
Extrato Aparente (%m/m)	1,35±0,00	1,35±0,00	1,35±0,00	1,59±0,73	ns
Extrato Real (%m/v)	3,58±0,02	3,54±0,03	3,52±0,01	4,24±0,70	ns
pH*	4,35±0,01	4,30±0,01	4,33±0,01	4,48±0,19	ns
Acidez Total (%m/v)	0,10±0,01 ^b	0,10±0,00 ^b	0,10±0,00 ^b	0,13±0,02 ^a	<0,05
Cor (EBC)	23,10±0,18	19,11±0,59	21,07±0,56	19,05±5,40	ns
Turbidez (%)	64,57±0,15 ^a	76,03±0,15 ^b	75,50±0,10 ^b	78,26±9,07 ^b	<0,05
Amargor (B.U)	15,20±0,87 ^b	18,53±1,67 ^a	17,63±1,06 ^a	21,48±4,62 ^a	<0,05
DPPH (mmol trolox/L)	1,40±0,19 ^{bc}	1,53±0,14 ^b	1,18±0,14 ^c	1,84±0,20 ^a	<0,05
ABTS (mmol trolox/L)	0,32±0,02 ^a	0,24±0,02 ^b	0,26±0,01 ^{ab}	0,26±0,05 ^b	<0,05

Nota: * adimensional. ^{abc}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (Fisher LSD, p < 0,05); ns: não houve diferença significativa. Legenda: A (controle), B (adicionada de zimbros na etapa de fermentação), C (adicionada de zimbros na etapa de maturação) e D (média das amostras comerciais).

Entre as características avaliadas observou-se que as cervejas produzidas não se diferenciaram das marcas comerciais com relação aos parâmetros de teor alcoólico, extrato aparente, extrato real, pH e cor. De maneira análoga, as cervejas adicionadas de zimbros não apresentaram diferença em relação à média comercial quando avaliados os parâmetros de turbidez, amargor e ABTS.

As diferenças nas características avaliadas entre as cervejas produzidas neste estudo e as comerciais, foram observadas apenas para os parâmetros de extrato primitivo, acidez total e DPPH, quando levado em conta, as formulações adicionadas de zimbro.

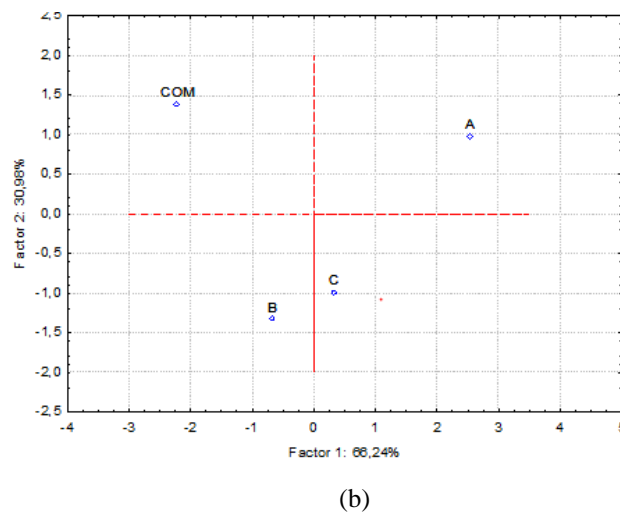
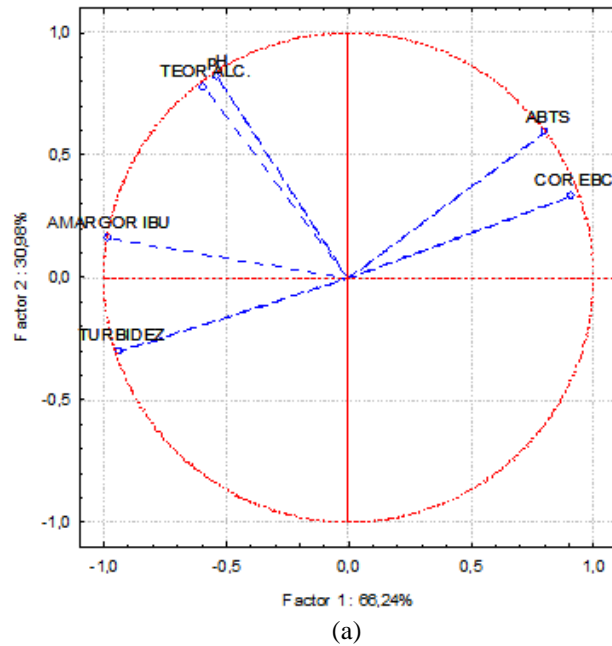
O extrato primitivo apresentou-se menor para as cervejas A, B e C quando comparados à média das cervejas comerciais, sendo que o resultado variou de 10,09 a 12,21 %m/m, indicando uma diferença de 17,37%. O mesmo foi observado para o parâmetro de acidez total, onde as cervejas produzidas apresentaram-se 23,1% menos ácidas se comparadas às marcas comerciais (0,13% m/v). Em relação à atividade antioxidante, no ensaio de inibição do radical DPPH, observou-se diferença significativa entre as amostras B, C e COM, sendo a amostra A igual a B e C. Os resultados variaram de 1,18 mmol trolox/L (amostra C) a 1,84 mmol trolox/L (amostra COM), representando um percentual de 35,87%.

As formulações das cervejas em estudo pouco diferenciaram-se das amostras já comercialmente existentes, sendo que a adição de zimbro não descaracterizou o estilo da bebida em relação aos seus parâmetros de identidade. As diferenças relacionadas ao extrato primitivo, acidez total e atividade antioxidante (DPPH) podem estar relacionadas às matérias-primas e adição da especiaria, o que não altera os requisitos legais (BRASIL, 2021).

5.4.1 Análise de Componentes Principais

Para facilitar a visualização das amostras de acordo com suas características, as Figuras 6a e 6b apresentam a análise de componentes principais (PCA) combinando os atributos das amostras das cervejas produzidas e média das marcas comerciais. De acordo com o PCA, os parâmetros de álcool, pH, cor, turbidez, amargor e ABTS explicaram 97,22% dos resultados (Fator 1: 66,4% e Fator 2: 30,98%).

FIGURA 6 - Análise dos componentes principais para as cervejas produzidas e para as cervejas comerciais.



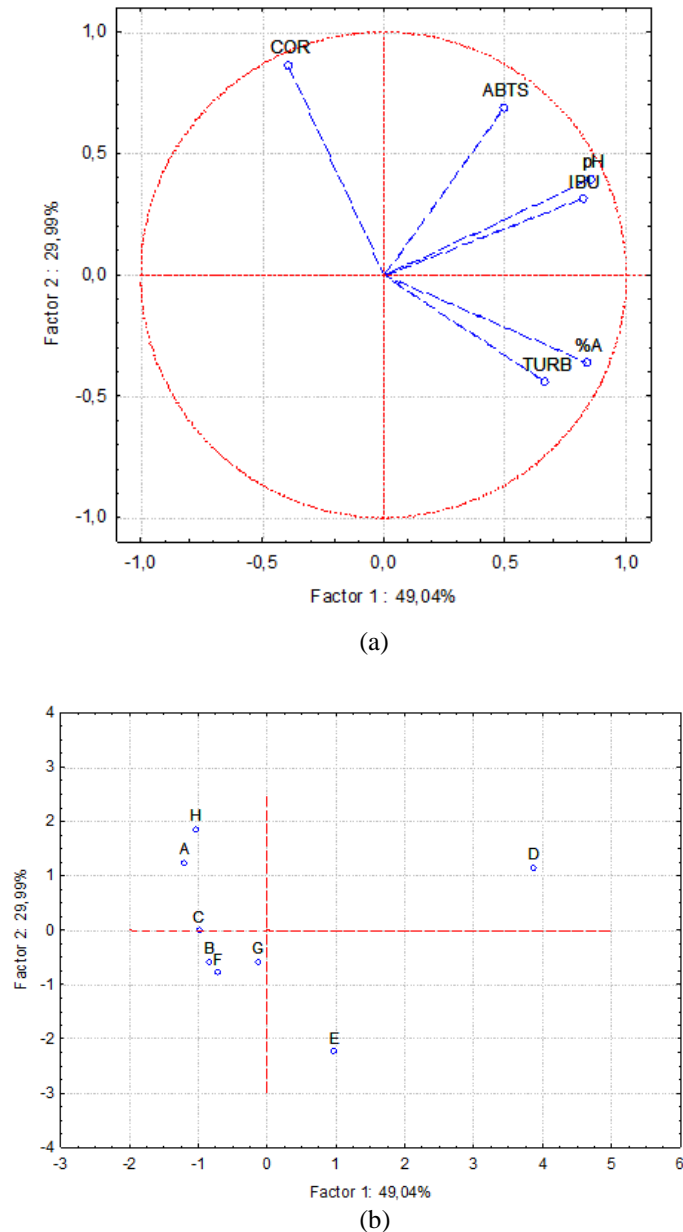
Analisando as figuras, percebe-se que as amostras A e COM apresentaram a maior correlação com os parâmetros avaliados se comparadas às amostras B e C. A amostra A pode ser caracterizada de acordo com os parâmetros de cor e ABTS, enquanto COM se identifica melhor com os parâmetros de pH e teor alcoólico. As amostras adicionadas de zimbro diferenciam-se das amostras controle e média das marcas comerciais, pois apresentaram os menores valores para os atributos avaliados, como confirma a Figura 6b.

Em contrapartida, considerando as amostras comerciais individualmente (Figura 7a e 7b) levando em conta os mesmos parâmetros (álcool, pH, cor, turbidez, amargor e ABTS), observa-se que os mesmos explicam 79,03% dos resultados (Fator 1: 49,04% e Fator 2: 29,99%). O comportamento das amostras produzidas em relação às cervejas comerciais

avaliadas individualmente é diferente da observada anteriormente (Figura 6a e 6b). A amostra A neste caso, se relaciona mais positivamente com a cor podendo ser equiparada com a amostra comercial H. Com relação às amostras B e C, estas apresentaram características próximas às cervejas comerciais F e G. A cerveja comercial D, é a amostra que melhor caracteriza-se pelos parâmetros ABTS, pH e IBU.

Apesar das cervejas B e C não apresentarem forte correlação com os parâmetros analisados, são classificadas como *Pale Ale* de acordo com as características que foram avaliadas nas análises físico-químicas, sendo agrupadas juntamente com marcas comerciais consolidadas no mercado.

FIGURA 7 - Análise dos componentes principais para as cervejas produzidas e para as cervejas comerciais.



5.5 ANÁLISE SENSORIAL

5.5.1 Teste de Aceitabilidade

A análise sensorial foi realizada com 63 avaliadores, dos quais 65,1% corresponderam a mulheres e 34,9% a homens, compreendidos em faixas etárias entre 18 a 23 anos (77,8%), 24 a 29 anos (9,5%), 30 a 35 anos (3,2%), 36 a 40 anos (3,2%) e mais de 40 anos (6,3%). Em relação ao consumo de cervejas, 17,5% consomem mais de três vezes na semana, 39,7% uma vez na semana, 28,6% às vezes, 11,1% raramente e 3,2% nunca consomem.

O resultado da aceitabilidade está descrito na Tabela 5. Dentre todos os atributos avaliados, o sabor ($p=0,04$), aroma ($p<0,01$) e amargor ($p=0,04$) apresentaram diferença significativa.

TABELA 5 - Médias hedônicas do teste aceitabilidade realizadas para avaliar a cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada ou não de zimbro.

Atributos/Amostras	A	B	C	p
Impressão Global	7,17±1,45	7,46±1,25	7,51±1,09	ns
Cor	7,46±1,43	7,87±0,81	7,81±1,11	ns
Sabor	6,81±1,84 ^b	7,03±1,40 ^b	7,48±1,03 ^a	0,04
Aroma	6,56±1,61 ^b	7,38±1,36 ^a	7,27±1,41 ^a	<0,01
Amargor	6,29±1,97 ^b	6,32±1,93 ^b	7,00±1,39 ^a	0,04
Aparência	7,43±1,34	7,92±1,08	7,78±1,22	ns

Nota: ^{abc}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras (Fischer LSD, $p < 0,05$); ns: não houve diferença significativa. Legenda: A (controle), B (adicionada de zimbro na etapa de fermentação) e C (adicionada de zimbro na etapa de maturação).

Apesar dos avaliadores estatisticamente não terem percebido diferença significativa entre as amostras, a impressão global das cervejas apresentou-se com boa aceitabilidade. O atributo foi avaliado com um score médio de 7,38, estando compreendido entre gostei moderadamente a gostei muito. Da mesma maneira, a cor e aparência foram avaliadas, apresentando scores médios de 7,71 para ambos os atributos.

Os avaliadores diferenciaram as amostras de cervejas em relação ao seu sabor, visto que o atributo apresentou diferença significativa ($p=0,04$). Os scores variaram de modo que a amostra C foi a mais bem avaliada (7,48) apresentando uma vantagem de 8,1% em relação às demais amostras.

Em relação ao aroma, observou-se que os avaliadores diferenciaram as amostras ($p<0,01$) de modo que atribuíram um maior score para as amostras adicionadas de zimbro (B e C), sendo que não foi observada diferença significativa entre esses tratamentos. O principal

motivo para tal resultado está relacionado com o poder aromatizante que a especiaria possui (GARI *et al.*, 2020). Os terpenos, monoterpenos e sesquiterpenos, constituem a parte principal do zimbro e determinam o aroma distinto dos óleos essenciais de zimbro (BUTKIENĖ; NIVINCKIENĖ; MOCKUTĖ, 2009; VAIČIULYTĖ, LOŽIENĖ, 2014).

O amargor também apresentou diferença perceptível para os avaliadores ($p=0,04$), sendo a amostra adicionada de zimbro durante a maturação (Amostra C) a melhor avaliada. A amostra C recebeu um score de 7,0 em relação ao parâmetro, apresentando uma aceitabilidade 10,9% maior que às demais amostras.

Ao avaliar os parâmetros que apresentaram diferença significativa, percebe-se uma correlação entre as características avaliadas. A amostra C foi a mais bem avaliada nos quesitos sabor (7,48) e amargor (7,00), ao passo que seu aroma, juntamente com a amostra B, também apresentou uma maior aceitabilidade. De um modo geral, as cervejas do estilo APA apresentam um amargor elevado se comparado às cervejas comumente consumidas (*pilsen*). No entanto, apesar da análise físico-química mostrar que o zimbro aumentou o amargor das amostras, através dos resultados pode-se dizer que a adição de uma especiaria aromática aumentou a aceitabilidade do amargor, uma vez que possa ter mascarado essa característica aumentando consequentemente o score do sabor. Apesar disso, o mesmo efeito não foi observado para a amostra B, indicando que a fermentação pode ter interferido negativamente na percepção sensorial da cerveja.

Embora os avaliadores tenham percebido diferença entre as cervejas evidenciando de modo positivo a adição de zimbro, pode-se perceber que a maioria dos scores ficaram próximos a 7, o que condiz com “gostei moderadamente”. Tal fato pode estar relacionado com o perfil dos avaliadores, formado predominantemente por jovens (18 a 23 anos), onde a maioria consome cerveja apenas uma vez na semana ou às vezes (68,3%). Em adição, o estilo da cerveja que não é tão comumente consumida, combinado com as características citadas acima, pode ter influenciado os resultados.

5.5.2 *Check-All-That-Apply* (CATA)

Os atributos marcados pelos avaliadores que obtiveram frequência mínima de 20% estão dispostos na Tabela 6.

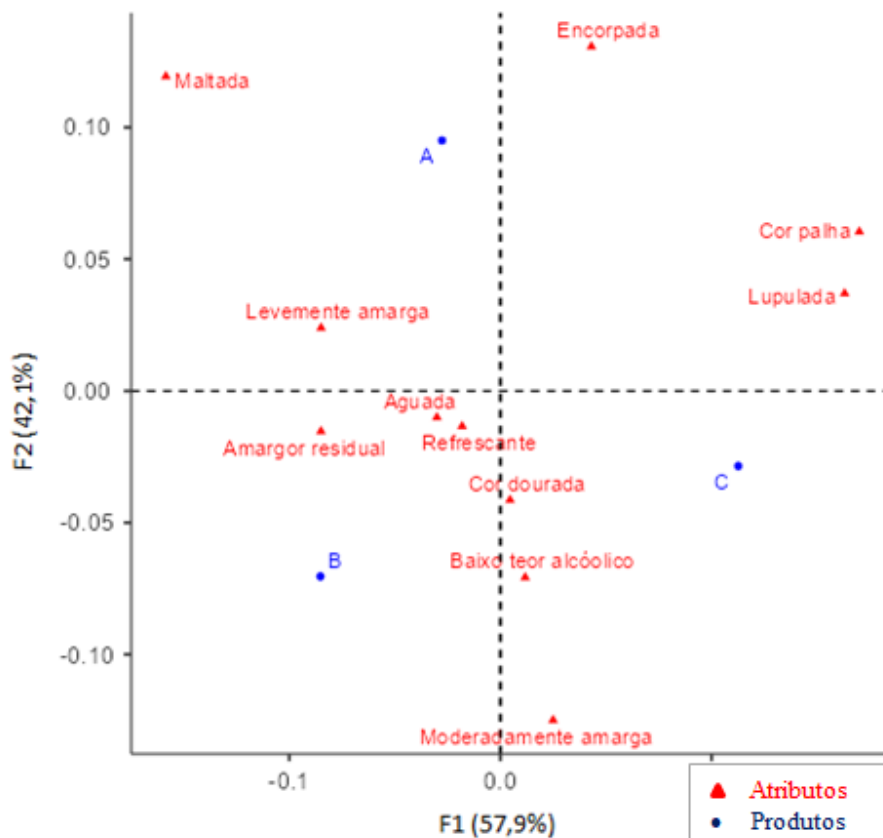
TABELA 6 - Frequências observadas em cada atributo para as cervejas avaliadas sensorialmente.

ATRIBUTO	A	B	C
Encorpada	0,132	0,090	0,111
Maltada	0,090	0,074	0,053
Cor dourada	0,201	0,212	0,212
Lupulada	0,090	0,069	0,106
Refrescante	0,143	0,143	0,138
Baixo teor alcólico	0,085	0,095	0,095
Moderadamente amarga	0,095	0,122	0,122
Amargor residual	0,111	0,116	0,095
Cor palha	0,074	0,053	0,085
Levemente amarga	0,132	0,127	0,106
Aguada	0,085	0,085	0,079

Nota: Valores em negrito apresentam maior porcentagem de marcações para o atributo. Legenda: A (controle), B (adicionada de zimbros na etapa de fermentação) e C (adicionada de zimbros na etapa de maturação).

Em complemento, o *check-all-that-apply* foi realizado demonstrando o comportamento das amostras frente aos atributos que obtiveram frequência mínima de 20%, como mostra a Figura 8.

FIGURA 8 - Análise de correspondência para caracterização de amostras de cervejas adicionadas de zimbros.



Legenda: A (controle), B (adicionada de zimbros na etapa de fermentação) e C (adicionada de zimbros na etapa de maturação).

Analisando a Figura 8 e a Tabela 6, observam-se as características atribuídas a cada formulação. Através da Figura 8 nota-se que a amostra controle (A), foi caracterizada como encorpada, maltada e levemente amarga. A amostra B, adicionada de zimbros na etapa de fermentação, caracterizou-se como uma cerveja aguada, refrescante e que apresenta um amargor residual. Por fim a amostra C, adicionada de zimbros na etapa de maturação, apresentou características de cor dourada, baixo teor alcoólico e moderadamente amarga. Em complemento, se analisado a Tabela 6, observa-se que os avaliadores não diferenciaram as amostras A e B quanto aos aspectos aguado e refrescante e, as amostras B e C quanto aos parâmetros de cor, teor alcoólico e amargor, sendo que foram caracterizadas na mesma frequência.

A formulação controle (A) foi caracterizada como maltada e encorpada, e também foi associada a refrescante e aguada, refletindo no perfil dos avaliadores. O mesmo fato ocorreu com a percepção da cor, onde a amostra C foi caracterizada como dourada e palha. O fato da formulação A ter sido atribuída a mais encorpada (0,132), pode estar relacionada ao seu valor de extrato real, que foi maior se comparado às demais formulações. Em relação às formulações adicionadas de zimbros, a amostra C, se destacou sendo 23% mais encorpada que a amostra B e 7,1% menos aguada.

Em concordância às análises laboratoriais, as cervejas B e C caracterizaram-se como sendo igualmente amargas, representando 28,4% a mais em relação à cerveja A. No entanto, no quesito amargor residual, a cerveja B apresentou-se com 22,1% a mais que a formulação C (menor valor entre as formulações), fato que explica a amostra C ter recebido o maior score no teste de aceitabilidade e comprova que a adição do zimbros combinado com a etapa do processamento em que foi adicionado, influenciou nas características das cervejas.

CONCLUSÃO

A demanda pelo desenvolvimento de novos produtos no mercado faz jus à necessidade de investir em diversidade, tecnologia e inovação. A cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro (*Juniperus communis*) atende esta procura, uma vez que agrega valor ao produto, diversificando-o sem alterar suas características e levando em conta o fator cultural da fabricação de cervejas.

Foi possível observar através dos resultados obtidos que o zimbro influenciou na composição da bebida, uma vez que alterou os parâmetros de extrato real, pH, cor, turbidez e amargor. No entanto, o alto poder antioxidante do zimbro não foi observado quando adicionado à cerveja, sendo que ao que tudo indica, foi afetado pela baixa concentração utilizada bem como, a forma em que foi adicionado. Em relação à comparação das bebidas com as marcas comerciais, através das análises físico-químicas, pode-se dizer que as cervejas adicionadas de zimbro podem ser caracterizadas como *American Pale Ale*, uma vez que sua composição e características ficam muito próximas de grandes marcas consolidadas no mercado.

O maior destaque deste trabalho foi observado na análise sensorial, onde foi evidenciado que as amostras adicionadas de zimbro obtiveram boa aceitação e foram melhores avaliadas em relação à amostra controle. O zimbro agregou valor ao produto quando avaliado o aroma, uma vez que as formulações B e C ficaram com score médio superior a amostra controle. Apesar disso, os scores ficaram próximos ao que corresponde a “gostei moderadamente”, fato que está conectado intimamente com o perfil dos avaliadores. Entretanto, de uma maneira geral a cerveja adicionada de zimbro durante a maturação foi a melhor aceita quanto ao sabor, aroma e amargor, sendo caracterizada como dourada e possuindo baixo teor alcóolico e residual amargo.

Por fim, a adição do zimbro como matéria-prima ainda é limitada, sendo necessário o desenvolvimento de mais pesquisas. A adição da especiaria na cerveja em questão representou um passo importante nesta direção, porém é preciso o desenvolvimento de mais estudos utilizando-se de outras formas e concentrações de adicionar-se a especiaria na bebida e agregar valor ao produto.

REFERÊNCIAS

ADAMENKO, K.; KAWA-RYGIELSKA, J.; KUCHARSKA, A. Z. Characteristics of Cornelian cherry sour non-alcoholic beers brewed with the special yeast *Saccharomyces ludwigii*. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 312, e125968, 2020.

ADAMS, R. P. **Junipers of the World: the genus *Juniperus***. Vancouver: Trafford Publ., 2004.

ALVES, L. M. F. **Análise físico-química de cervejas tipo pilsen comercializadas em Campina Grande na Paraíba**. 2014. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

AMBEV. **Os principais ingredientes da cerveja**. 2019. Disponível em: <https://www.ambev.com.br/blog/categoria/cerveja/os-principais-ingredientes-da-cerveja/>. Acesso em: 09 nov. 2020.

AMBEV. **Sobre a Ambev: A construção de um sonho grande**. [2019]. Disponível em: <https://www.ambev.com.br/sobre/>. Acesso em: 02 nov. 2020.

ANDRADE, H. N. **Influência da água cervejeira sobre o perfil sensorial das cervejas artesanais de alta fermentação**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências e Tecnologia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Pau dos Ferros, 2019.

ARAÚJO, G. S. **Elaboração de uma cerveja ale utilizando melão de caroá [*Sicana odorífera (Vell.) Naudim*] como adjunto do malte**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

BAMFORTH, C. W.; COOK, D. J. Beer. In: BAMFORTH, C. W.; COOK, D. J. **Food, fermentation, and microorganisms**. 2. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2019. cap. 2, p. 43-91.

BARROS, C. R.; GHESTI, G. F. **Malte: essência da cerveja**. 1. ed. [S.l.: s.n.], 2016.

BJCP – Beer Judge Certification Program. Beer Style Guidelines., 2021. p. 33-34.

BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast and Fermentation**. 1 ed. Hoboken: Wiley, 2008.

BRASIL. **Instrução Normativa N°65, de 10 de dezembro de 2019**. Padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 dez. 2019.

BUTKIENĖ, R., NIVINCKIENĖ, O., MOCKUTĖ, D. Two chemotypes of essential oils produced by the same *Juniperus communis* L. growing wild in Lithuania. **Chemija**, [s.l.], v. 20, n. 3, p. 195-201, 2009.

- CASTRO, M. R.; BELO, A. F.; AFONSO, A.; ZAVATTIERI, M. A. Micropropagation of *Juniperus navicularis*, an endemic and rare species from Portugal SW coast. **Plant Growth Regulators**, [s.l.], v.65, p. 223-230, 2011.
- COELHO NETO, D. M. C.; FERREIRA, L. L. P.; SAD, C. M. S.; CASTRO, E. V. R.; BORGES, W. S.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA, V. J. Conceitos químicos envolvidos na produção de cerveja: uma revisão. **Revista Virtual de Química**, [Niterói], v. 12, n. 1, p. 120–147, fev. 2020.
- DRAGONE, G.; ALMEIDA, J. B.; SILVA, T. A. O. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 2. ed. v.1. São Paulo: Edgard Blücher, 2016. cap. 3. p. 51-83.
- DUARTE, L. G. R. **Avaliação do emprego do café torrado com aromatizante na produção de cervejas**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências – Microbiologia Aplicada) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.
- DUCRUET, J.; RÉBÉNAQUE, P.; DISERENS, S.; KOSINSKA-CAGNAZZO, A.; HÉRITIER, I.; ANDLAUER, W. Amber ale beer enriched with goji-berries – The effect on bioactive compound content and sensorial properties. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 226, p. 109-118, 2017.
- DUTRA, V. L. M. **Descrição de cervejas tipo pilsen por métodos sensoriais rápidos e análises físico-químicas**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.
- EMAMI, S. A.; ABEDINDO, B. F.; HASSANZADEH-KHAYYAT. Antioxidant Activity of the Essential Oils of Different Parts of *Juniperus excelsa* M. Bieb. subsp. *excelsa* and *J. excelsa* M. Bieb. subsp. *polycarpos* (K. Koch) Takhtajan (Cupressaceae). **National Library of Medicine**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 799-810, 2011.
- FIGUEIREDO, A. C.; PEDRO, L. G.; BARROSO, J. G.; TRINDADE, H.; SANCHES, J.; OLIVEIRA, C.; CORREIA, M. *Juniperus navicularis* gand. **Hortofruticultura & Floricultura**, [s.l.], p. 20-23, nov. 2014.
- FILHO, R. C. N.; GALVAN, D.; EFFTING, L.; TERHAAG, M. M.; YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; SPINOSA, W. A. Effects of adding spices with antioxidants compounds in red ale style craft beer: A simplex-centroid mixture design approach. **Food Chemistry**, v. 365, e. 130478, dez. 2021.
- FOUDIL-CHERIF, Y.; YASSAA, N. Enantiomeric and non-enantiomeric monoterpenes of *Juniperus communis* L. and *Juniperus oxycedrus* needles and berries determined by HS-SPME and enantioselective GC/MS. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 135, n. 3, p. 1796–1800, jun. 2012.
- GALEGO, L. R. **Bebidas espirituosas do Algarve**. Dissertação (Doutorado em Química) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, Faro, 2015.
- GAMBA, M. M. Cerveja artesanal com pimenta rosa: **Processamento, características físico-químicas e estudo de mercado**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual do Espírito Santo, Alegre, 2016.

GARCIA, M. M. E. **Produção de cerveja: Utilização de estirpes não-convencionais em co-fermentação com *Saccharomyces* para potenciação do perfil sensorial de diversos tipos de cerveja.** 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.

GARI, M. T.; ADMASSU, S.; ASFAW, B. T.; ABEBE, T.; JAYAKUMAR, M. Review on : Extraction of essential oil (Gin Flavor) from Juniper Berries (*Juniperus communis*). **STM Journals**, [s.l.], v.7, n.1, p.19-28, jan. 2020.

GIBSON, M.; NEWSHAM, P. Wine and Beer. In: GIBSON, M. **Food Science and the Culinary Arts**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2018. cap. 19, p. 395-397.

GIORGI, V. V. “Cultos em cerveja”: Discursos sobre a cerveja artesanal no Brasil. **Sociedade e Cultura**, Goiânia, v. 18, n. 1, p. 101–111, jan./jun. 2015.

GUERRA, A. M. M. **Estudo exploratório das preferências dos consumidores de gin em Portugal.** Dissertação (Mestrado em Marketing) – Lisboa School of Economics & Management, Lisboa, 2014.

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

HARRISON, M. A.; ALBANESE, J. B. Beer/Brewing. In: SCHMIDT, T. M. **Encyclopedia of Microbiology**. 4 ed. Cambridge: Elsevier Inc., 2017. v. 1, p. 467–477.

HARRISON, M. A. Beer/Brewing. In: SCHAECHTER, M. **Encyclopedia of Microbiology**. 3 ed. San Diego: Elsevier Inc., 2009. v.1, p. 23-33.

HAYWARD, L.; WEDEL, A.; MCSWEENEY, M. B. International Journal of Gastronomy and Food Science Acceptability of beer produced with dandelion, nettle, and sage. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s.l.], v. 18, e.100180, nov. 2019.

HOFERL, M.; STOILOVA, I.; SCHMIDT, E.; WANNER, J.; JIROVETZ, L.; TRIFONOVO, L. K.; KRASTANOV, A. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Juniper Berry (*Juniperus communis L.*) Essential Oil. Action of the Essential Oil on the Antioxidant Protection of *Saccharomyces cerevisiae* Model Organism. **National Library of Medicine**, [s.l.], v. 3, n. 1, mar. 2014.

HUMIA, B. V.; SANTOS, K. S.; SCHNEIDER, J. K.; LEAL, I. L.; BARRETO, G. A.; BATISTA, T.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I.; KRAUSE, L. C.; MENDONÇA, M. C.; PADILHA, F. F. Physicochemical and sensory profile of Beaugard sweet potato beer. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 312, e.126087, dez. 2020.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed., 2008.

KAWA-RYGIELSKA, J.; ADAMENKO, K.; KUCHARSKA, A. Z.; PROROK, P.; PIÓRECKI, N. Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 281, n. 30, p. 147-153, mai. 2019.

KOURTI, T. Application of latent variable methods to process control and multivariate statistical process control in industry. **International Journal of Adaptive Control and Signal Processing**, v.19, n. 4, p. 213-246, 2005.

LESJAK, M. M.; BEARA, I. N.; ORCIC, D. Z.; PETAR, K. N.; SIMIN, N. D.; EMILIJ, S. D.; MIMICA-DUKIC, N. M. Phytochemical composition and antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities of *Juniperus macrocarpa* Sibth. et Sm. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 257–268, mar. 2014.

LEWIS, M. Beer and Brewing. In: KIRK-OTHMER. **Encyclopedia of Chemical Technology**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2015. p. 1–30. DOI 10.1002/0471238961.0205051814091919.a01.pub3.

LEA, A. G.; PIGGOTT, J. Fermented Beverage Production. 2. ed. New York: **Springer Science & Business Media**, 2011. cap.3, p. 41-54.

LI, Q.; WANG, J.; LIU, C. Beers. In: PANDEY, A.; SANROMÁN, M. A.; DU, G.; SOCCOL, C. R.; DUSSAP, C. G. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: food and beverages industry**. [S.l.]: Elsevier B.V., 2017. cap. 12, p. 306-316.

LI, Q.; WANG, J.; ROSENBERG, D.; ZHAO, H.; LENGYEL, G.; NADEL, D. Fermented beverage and food storage in 13,000 y-old stone mortars at Raqefet Cave, Israel: Investigating Natufian ritual feasting. **Journal of Archaeological Science: Reports**, [s.l.], v. 21, p. 783-793, out. 2018.

LOŽIENE, K.; VENSŠKUTONIS, P. R. Juniper (*Juniperus communis L.*) oils. In: PREEDY, V. R. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**, [s.l.]: Elsevier Inc., 2016. cap.56, p. 495–500.

MACHADO, J. C.; FARIA, M. A.; FERREIRA, I. Hops: New Perspectives for an Old Beer Ingredient. **Natural Beverages**, [s.l.], v. 13, p. 267-301, 2019.

MAIA, P. D. D. S.; BAIÃO, D. S.; SILVA, V. P. F.; MIGUEL, M. A. L.; LACERDA, E. C. Q.; CALADO, V. M. A.; CARNEIRO, C. S.; FINOTELLI, P. V.; PIERUCCI, A. P. T. R. Microencapsulation of a craft beer, nutritional composition, antioxidante stability, and drink acceptance. **LWT – Food Science and Technology**, [s.l.], v. 133, e110104, 2020.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário da Cerveja 2020**. Brasília, 2021.

MARTINS, V. M. R.; RODRIGUES, M. Â. Produção e tecnologia de cereais: processo de maltagem da cevada. **Instituto Politécnico de Bragança**, Bragança, jul. 2015.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A Produção de Cerveja no Brasil. **Revista Cítno**, [s.l.], v. 1, n. 1, p. 34-42, out./dez. 2011.

MEYNER, M.; CASTURA, J. C.; CARR, B. T. Existing and new approaches for the analysis of CATA data. **Food Quality and Preference**, v. 30, n. 2, p. 309–319, 2013.

OLIVEIRA, M. S. R.; FRANZEN, F. L.; MACHADO, A. C. A.; BASSACO, G. P.; MANFIO, M. Elaboração de cervejas artesanais com o uso de adjuntos cervejeiros regionais e flores comestíveis. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 12, p. 121412-121432, dez. 2021.

OLIVEIRA, N. A. M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. Monografia (Especialista em Microbiologia Ambiental e Industrial) – Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

OSMA, A. Cold pressed juniper (*Juniperus communis L.*) oil. In: RAMADAN, M. F. **Cold Pressed Oils: green technology, bioactive compounds, functionality, and applications**. [S.l.]: Elsevier Inc., 2020. cap. 48, p. 537-540.

PANDEY, S.; TIWARI, S.; KUMAR, A.; NIRANJAN, A.; CHAND, J.; LEHRI, A.; CHAUHAN, P. S. Antioxidant and anti-aging potential of Juniper berry (*Juniperus communis L.*) essential oil in *Caenorhabditis elegans* model system. **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 120, p. 113–122, mai. 2018.

PINTO, L. I. F.; ZAMBELLI, R. A.; JUNIOR, E. C. S.; PONTES, D. F. Desenvolvimento de Cerveja Artesanal com Acerola (*Malpighia emarginata DC*) e Abacaxi (*Ananas comosus L. Merrill*). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 10, n. 4, p. 67, out./dez. 2015.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

RIU-AUMATELL, M. Gin. In: CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. **Encyclopedia of Food and Health**, Oxford: Elsevier, 2016. p. 223–224.

RODRÍGUEZ, Y. B.; AGUILAR, I. G.; SILVA, J. B. A. Utilização do malte de sorgo na produção de cerveja: revisão bibliográfica. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, e2017198, jun. 2018.

SALAMON, I.; OTEPKA, P. Fructus juniperi (*Juniperus communis L.*) as raw material for the production of the “Borovička” alcoholic beverage. **Acta Horticulturae**, [s.l.], v. 1205, p. 533–538, 2018.

SIDOOSKI, T. **Processo de produção de cerveja puro malte do tipo Pale Ale**. 2011. Trabalho de Conclusão de curso (Graduação em Engenharia Química) - Centro de Ciências Tecnológicas da Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2011.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. DE. Cerveja e sociedade. **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 85–91, mar. 2016.

SINDICERV – Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja. **O setor em números**, Brasília, [2019].

ŠOJIĆ, B.; TOMOVIĆ, V.; JOKANOVIĆ, M.; IKONIĆ, P.; DŽINIĆ, N.; KOCIĆ-TANACKOV, S.; POPOVIĆ, L.; TASIĆ, T.; SAVANOVIĆ, J.; ŽIVKOVIĆ ŠOJIĆ, N. Antioxidant activity of *Juniperus communis* L. essential oil in cooked pork sausages. **Czech Journal of Food Sciences**, [s.l.], v. 35, n. 3, p. 189–193, 2017.

SORBO, A. C. A. C. **Avaliação das propriedades de uma cerveja artesanal tipo pilsen suplementada com polpa de maracujá**. 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Energia da agricultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, 2017.

SPAGGIARI, G.; CIGNARELLI, A.; SANSONE, A.; BALDI, M.; SANTI, D. To beer or not to beer: A meta-analysis of the effects of beer consumption on cardiovascular health. **PLOS ONE**, [s.l.], v. 15, n. 6, p. 1–17, jun. 2020.

SPÓSITO, M. B.; ISMAEL, R. V.; BARBOSA, C. M. A.; TAGLIAFERRO, A. L. A cultura do lúpulo. **Jornadas técnicas anuais da Associação Portuguesa dos Técnicos de Cerveja e Malte**. n. 68, Piracicaba: ESALQ, 2019.

STEINER, T.; BECKER, M.; GASTL, M. Turbidity and Haze Formation in Beer – Insights and Overview. **Journal of The Institute of Brewing**, [S.l.], v. 116, n. 4, p. 360-368, 2010.

SWANSTON, J. S.; WILHELMSON, A.; RITALA, A.; GIBSON, B. R. Malting, Brewing, and Distilling. In: SHEWRY, P. R.; ULLRICH, S. E.. **Barley: chemistry and technology**. 2. ed. [S.l.]: Elsevier Ltd, 2014. cap. 8, p. 193-198.

TAVARES, L.; McDOUGALL, G. J.; FORTALEZAS, S.; STEWART, D.; FERREIRA, R. B.; SANTOS, C. N. The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 135, n. 2, p. 562–570, mai. 2012.

VAIČIULYTĖ, V., LOŽIENĖ, K. Variation of chemical and morphological characters of leaves and unripe cones in *Juniperus communis*. **Botanica Lithuanica**, Lituânia, v. 19, n.1, p. 37-47, 2014.

VASILJEVIĆ, B.; MITIĆ-ĆULAFIĆ, D.; DJEKIĆ, I.; MARKOVIĆ, T.; KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ, J.; TOMASEVIĆ, I.; VELEBIT, B.; NIKOLIĆ, B. Antibacterial effect of *Juniperus communis* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* in vitro and in wine marinated beef. **Food Control**, [s.l.], v. 100, p. 247–256, jan. 2019.

VIEJO, C. G.; FUENTES, S.; TORRICO, D. D.; GODBOLE, A.; DUNSHEA, F. R. Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 293, p. 479–485, abr. 2019.

VICHI, S.; RIU-AUMATELL, M.; MORA-PONS, M.; GUADAYOL, J. M.; BUXADERAS, S.; LÓPEZ-TAMAMES, E. HS-SPME coupled to GC/MS for quality control of *Juniperus communis* L. berries used for gin aromatization. **Food Chemistry**, [s.l.], v.105, n. 4, p. 1748–1754, mar. 2007.

ZARNKOW, M. Beer. In: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2. ed. v.1. [S.l.]: Elsevier Ltd., 2014. p. 209–215.

YU, X.; CAI, X.; LUO, L.; WANG, J.; MA, M.; WANG, M.; ZENG, L. Influence of tea polyphenol and bovine serum albumin on tea cream formation by multiple spectroscopy methods and molecular docking. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 333, e. 127432, 2020.

WALTHER, A.; HESSELBART, A.; WENDLAND, J. Genome sequence of *Saccharomyces carlsbergensis*, the world's first pure culture lager yeast. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, [s.l.], v. 4, n. 5, p. 783–793, fev. 2014.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Universidade Estadual de Ponta Grossa
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS

Av.: Gen. Carlos Cavalcanti, 4748 CEP: 84030-900 Bloco M, Sala 100

Campus Uvaranas Ponta Grossa Fone: (42) 3220.3108 e-mail: seccoep@uegp.br

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL ESTILO *AMERICAN PALE ALE* ADICIONADA DE ZIMBRO (*Juniperus communis*)” (COEP 4.741.157) tendo como pesquisadora responsável a Prof^a Renata Dinnies Santos Salem da Universidade Estadual de Ponta Grossa. O objetivo da pesquisa é desenvolver e caracterizar uma cerveja artesanal estilo *American Pale Ale* adicionada de zimbro em diferentes etapas do processo e avaliar parâmetros físico-químicos, tecnológicos e sensoriais dos mesmos.

A sua participação no estudo será da seguinte forma: provar as amostras de cervejas de forma individual e preencher as fichas expressando sua opinião a respeito do produto. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Os benefícios esperados é o desenvolvimento de uma cerveja adicionada de zimbro contribuindo para a diversificação da bebida, além do mais, proporcionando vantagens ao seu consumo uma vez que há indícios de que possui um alto poder antioxidante, tornando-se assim um produto em potencial comercialização. Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar nos endereços abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEPG, cujo endereço consta deste documento.

Vale salientar também que você será incluso na pesquisa **se e somente se** tiver idade acima de 18 anos completos e **não** for dirigir após a realização da pesquisa.

Após as análises você será informado dos resultados desta pesquisa da qual participa. Sua participação é voluntária, portanto não receberá recompensa ou gratificação nem pagará para participar. Será garantido o livre acesso a todas as informações e retirada de dúvidas sobre o estudo, enfim, tudo o que você queira saber antes, durante e depois da participação na pesquisa. Inte também, sem prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido tendo também todas as dúvida esclarecidas sobre a sua participação neste trabalho. Em caso de dúvidas, você poderá entrar em contato com qualquer um dos membros da pesquisa ou com a Comissão de Ética em Pesquisa da UEPG.

Renata Dinnies Santos Salém

Avenida Carlos Cavalcanti – Uvaranas, Campus Universitário n° - 4748 Ponta Grossa/PR.

Telefone: (42) 98842-6357

Francini Aparecida Barreto Costantin

Avenida Carlos Cavalcanti – Uvaranas, Campus Universitário n° - 4748 Ponta Grossa/PR.

Telefone: (42) 99928-6058

Comitê de Ética em Pesquisa

UEPG campus Uvarana, Bloco M, sala 100

Telefone: (42) 3220-3108.

Assinatura do convidado para a pesquisa

Assinatura pesquisador responsável
participante

Assinatura pesquisador

Ponta Grossa, ____ de _____ de 2022.

Eu _____, sob CPF/RG: _____, maior de 18 anos, declaro ter conhecimento das informações contidas nesse documento e ter recebido respostas claras às minhas questões, a propósito da minha participação direta (ou indireta) na pesquisa e, adicionalmente, declaro ter compreendido o objetivo, a natureza, os riscos e os benefícios deste estudo. Após reflexão e um tempo razoável, eu decidi, livre e voluntariamente, participar deste estudo. Estou consciente que posso deixar o projeto a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

Nº	NOME	CPF/RG	ASSINATURA
1			
2			
3			
4			
5			
n			

APÊNDICE B - FICHA DE AVALIAÇÃO: TESTE DE ACEITABILIDADE E CATA DA CERVEJA ARTESANAL AMERICAN PALE ALE ADICIONADA DE ZIMBRO.

NOME: _____ SEXO: () F () M CÓDIGO DA AMOSTRA: _____

IDADE: () 18 a 23 anos () De 24 a 29 anos () De 30 a 35 anos () 36 a 40 anos () Mais de 40 anos

Com que frequência consome cerveja?

() Diariamente () Mais de 3x na semana () Uma vez na semana () Às vezes () Raramente () Nunca

- 1) Você está recebendo uma amostra de cerveja artesanal *American Pale Ale* adicionada de Zimbros. Avalie cada um dos atributos abaixo de acordo com a escala:

- 9 – Gostei muitíssimo
 8 – Gostei muito
 7 – Gostei moderadamente
 6 – Gostei ligeiramente
 5 – Nem gostei, nem desgostei
 4 – Desgostei ligeiramente
 3 – Desgostei moderadamente
 2 – Desgostei muito
 1 – Desgostei muitíssimo

Impressão global: _____

Cor: _____

Sabor: _____

Aroma: _____

Amargor: _____

Aparência: _____

- 2) Assinale todas as características que são atribuídas à amostra:

- | | | | |
|--|---|---|--|
| <input type="checkbox"/> Cor âmbar | <input type="checkbox"/> Produto barato | <input type="checkbox"/> Moderadamente amarga | <input type="checkbox"/> Adstringente |
| <input type="checkbox"/> Aroma floral | <input type="checkbox"/> Cor dourada | <input type="checkbox"/> Aroma amadeirado | <input type="checkbox"/> Aroma de especiaria |
| <input type="checkbox"/> Cor cobre | <input type="checkbox"/> Lupulada | <input type="checkbox"/> Amargor residual | <input type="checkbox"/> Levemente amarga |
| <input type="checkbox"/> Encorpada | <input type="checkbox"/> Baixo teor alcoólico | <input type="checkbox"/> Cor palha | <input type="checkbox"/> Aguada |
| <input type="checkbox"/> Alta carbonatação | <input type="checkbox"/> Refrescante | <input type="checkbox"/> Baixa carbonatação | <input type="checkbox"/> Alto teor alcoólico |
| <input type="checkbox"/> Muito amarga | <input type="checkbox"/> Aroma cítrico | <input type="checkbox"/> Aroma frutado | <input type="checkbox"/> Produto caro |
| <input type="checkbox"/> Maltada | | | |

Observações: _____