



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

LEON SACHA VIEIRA OLIVER

**PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, METABOLÔMICO E
ACEITABILIDADE DA CERVEJA CATHARINA SOUR
ELABORADA COM MARACUJÁ DA CAATINGA E
UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS DE FERMENTAÇÃO**

UFBA

SALVADOR

2023



LEON SACHA VIEIRA OLIVER

**PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, METABOLÔMICO E
ACEITABILIDADE DA CERVEJA CATHARINA SOUR
ELABORADA COM MARACUJÁ DA CAATINGA E
UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS DE FERMENTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PGAli) da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Prof. Dra. Aline Camarão Telles Biasoto

Orientador

Prof. Dr. Marcos dos Santos Lima

Coorientador

SALVADOR

2023

TERMO DE APROVAÇÃO

LEON SACHA VIEIRA OLIVER

PERFIL FÍSICO-QUÍMICO, METABOLÔMICO E ACEITABILIDADE DA CERVEJA CATHARINA SOUR ELABORADA COM MARACUJÁ DA CAATINGA E UTILIZANDO DIFERENTES MÉTODOS DE FERMENTAÇÃO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 29 de novembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ALINE TELLES BIASOTO MARQUES**
Data: 05/12/2023 12:21:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Aline Camarão Telles Biasoto (Orientadora)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Meio Ambiente
(Orientadora)

Documento assinado digitalmente
 **ARAO CARDOSO VIANA**
Data: 11/12/2023 17:12:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. ARÃO CARDOSO VIANA (EXAMINADOR)

Instituto Federal do Serão Pernambucano (IFSertão, PE)

Documento assinado digitalmente
 **DEBORAH MUROWANIECKI OTERO**
Data: 09/12/2023 15:26:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Deborah Murowaniecki Otero

Universidade Federal da Bahia, BA
(Membro Interno)

Uma longa viagem começa com um único passo.”(LAO TSE)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a mim mesmo em primeiro lugar, por tantas vezes em que pensei em desistir pelos meus problemas, mas sempre busquei ir até o final em momentos difíceis, aos meus familiares, principalmente a minha mãe que pode me ajudar bastante nessa parte final.

Agradeço a Universidade Federal da Bahia e ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Farmácia pelo ensino gratuito e de qualidade que sempre foi ofertado e que nesse período de dificuldade que passou a educação no Brasil, a todos que trabalham e que sempre buscaram manter o padrão de ensino, desde os funcionários terceirizados, o corpo técnico e corpo docente.

A Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa ofertada (nº do processo: 88887.610860/2021-00), pelo incentivo financeiro através dos programas de bolsas na qual pude ser contemplado.

A minha orientadora Dra. Aline Biasoto Marques Telles, que nesse período me ajudou na orientação do trabalho e me receber na EMBRAPA Semiárido de Petrolina para desenvolver a minha pesquisa;

Ao meu co-orientador Dr. Marcos dos Santos Lima, pelo tempo que teve para me ajudar com as ideias que pude desenvolver ao longo do processo e me receber no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano;

A Embrapa Semiárido pela estrutura que tive para desenvolver meu trabalho, especialmente ao Laboratório de Enologia que conheci pessoas de se admirar e formei amizades, em especial a Antero, Claudio, Edna e Pedro.

À alguns colegas que pude conhecer e admirar como Luís Henrique, Islaine Santos, Maria Dutra, Renata Santos, Inglides Gomes;

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, que pude fazer alguns testes iniciais e análises no desenvolvimento da pesquisa;

A Dra. Gabriela Müller, da empresa Levtek, de Santa Catarina, que fez doações de leveduras para o projeto.

RESUMO

Catharina Sour é um estilo de cerveja brasileiro registrado internacionalmente, em sua composição é obrigatória a presença de ácido lático, resultante de fermentação láctica, e a adição de frutas. Trata-se de uma cerveja de trigo, leve e refrescante, com uma acidez equilibrada, devido a predominância de ácido lático, sendo obrigatória a adição de frutas em sua composição, na forma de fruta *in natura* ou polpa (até 20%). O baixo amargor, corpo leve, teor alcoólico moderado (4,0% a 5,5%), e a carbonatação moderadamente alta, permitem que o sabor e o aroma da fruta se destaquem nesse estilo de cerveja. O uso de frutas é comum em cervejas, agregando aroma, sabor e até mesmo o potencial nutracêutico da bebida, dependendo do tipo de fruta, quantidade adicionada e etapa de adição no processo de produção. O maracujá-da-caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast) é uma das 200 espécies de maracujá encontradas no Brasil. Esta espécie é produzida de forma extrativista por agricultores familiares que habitam o Semiárido da região Nordeste do Brasil, sendo considerado como um dos mais importantes frutos do bioma Caatinga. É um fruto rico em compostos bioativos, com destaque para os compostos fenólicos. Neste sentido, o objetivo do estudo foi avaliar a influência de dois métodos fermentativos, empregando gêneros distintos de leveduras, no perfil físico-químico, metabolômico e aceitabilidade da cerveja elaborado no estilo Catharina Sour com adição de polpa de maracujá da caatinga. Para o método tradicional (*kettle sour*), foi conduzida fermentação láctica seguida de fermentação alcoólica, com adição de bactérias *Lactobacillus buchneri* e leveduras American Ale *Saccharomyces cerevisiae*, respectivamente. Os resultados apontaram que o método tradicional foi mais efetivo para a produção de cerveja no estilo Catharina Sour, devido a melhor eficiência no processo fermentativo, maior produção de etanol (32,75 g L⁻¹), glicerol (4,65g L⁻¹), ácido lático (4,71 g L⁻¹), além de açúcares e compostos fenólicos. Entretanto, o estudo destaca-se o potencial da levedura *Lachancea thermotoleran* para o estilo de cerveja Catharina Sour, promovendo a elaboração de produto de boa aceitação sensorial a um custo de produção inferior. De modo geral, a adição de polpa de maracujá da caatinga enriqueceu a cerveja Catharina Sour em termos de compostos fenólicos, também chamados de bioativos, proporcionando à bebida teores de miricetina, hesperidina, ácido *trans*-caftárico, *trans*-resveratrol e da procianidina B1, além de aumentar as concentrações de (+)-catequina e procianidina A2. Assim a adição de frutas a cerveja, a exemplo do maracujá da caatinga, além de promover inovação, tipicidade e melhoria das características do produto, pode melhorar seu aspecto nutracêutico e tornar seu consumo moderado benéfico para a saúde dos consumidores.

Palavras-chave: Cervejas ácidas, bioma Caatinga, *Passiflora cincinnata* Mast., *Kettle Sour*, *Lachancea ssp.*

ABSTRACT

Catharina Sour is a Brazilian beer style internationally registered, requiring the presence of lactic acid resulting from lactic fermentation and the addition of fruits. It is a wheat beer, light and refreshing, with balanced acidity due to the predominance of lactic acid. The addition of fruits is mandatory, either in the form of fresh fruit or pulp (up to 20%). Low bitterness, light body, moderate alcohol content (4.0% to 5.5%), and moderately high carbonation allow the fruit's flavor and aroma to stand out in this beer style. The passion fruit of the Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast) is one of the 200 passion fruit species found in Brazil. This species is sustainably produced by family farmers in the Semi-Arid region of Northeast Brazil, considered one of the most important fruits in the Caatinga biome. It is rich in bioactive compounds, particularly phenolic compounds. The study aimed to evaluate the influence of two fermentation methods, employing different yeast strains, on the physicochemical, metabolomic, and acceptability profile of Catharina Sour beer with the addition of Caatinga passion fruit pulp. For the traditional method (kettle sour), lactic fermentation was followed by alcoholic fermentation, with the addition of *Lactobacillus buchneri* bacteria and American Ale *Saccharomyces cerevisiae* yeast, respectively. The results indicated that the traditional method was more effective for producing Catharina Sour beer due to better efficiency in the fermentation process, higher ethanol production (32.75 g L⁻¹), glycerol (4.65 g L⁻¹), lactic acid (4.71 g L⁻¹), as well as sugars and phenolic compounds. However, the study highlights the potential of the *Lachancea thermotolerans* yeast for the Catharina Sour beer style, promoting the production of a sensory-accepted product at a lower production cost. Overall, the addition of Caatinga passion fruit pulp enriched Catharina Sour beer with phenolic compounds, also known as bioactives, providing the beverage with levels of myricetin, hesperidin, trans-caffeic acid, trans-resveratrol, and procyanidin B1, in addition to increasing concentrations of (+)-catechin and procyanidin A2. Thus, the addition of fruits to beer, such as Caatinga passion fruit, not only promotes innovation, typicity, and product improvement but also enhances its nutraceutical aspect, making moderate consumption beneficial to consumers' health.

Keywords: Sour beers, Caatinga biome, *Passiflora cincinnata* Mast., Kettle Sour, *Lachancea* spp.

LISTA DE FIGURAS

<i>CAPÍTULO I</i>	13
FIGURA 1- Fermentação Alcoólica.....	26
FIGURA 2 - Fermentação Lática.....	27
FIGURA 3 - Fluxograma de Produção de Catharina Sour.....	29
FIGURA 4 - Maracujá da Caatinga (Passiflora Cincinnata Mast.).....	30
FIGURA 5 - Principais Classes de compostos fenólicos.....	33
 <i>CAPÍTULO II</i>	 42
FIGURA 1 - Resultados de Açúcares e Álcoois da Cerveja no HPLC.....	52
FIGURA 2 - Parâmetros Físico-químicos e Viabilidade Celular da Cerveja durante a fermentação alcoólica.....	54
FIGURA 3 - Resultado da Avaliação Sensorial da Cerveja.....	61

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II.....	42
TABELA 1 - Características físico-químicas, perfil de álcoois, ácidos orgânicos e açúcares do mosto de cerveja após o processo de brassagem, da polpa de maracujá da caatinga (<i>Passiflora cincinnata</i> Mast), e das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour com adição de maracujá da caatinga a partir das leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (LAB) e <i>Lachancea thermotolerans</i> (LAN).....	56
TABELA 2 - Perfil de compostos fenólicos do mosto de cerveja após o processo de brassagem, da polpa de maracujá da caatinga (<i>Passiflora cincinnata</i> Mast), e das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour com maracujá da caatinga a partir das leveduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (LAB) e <i>Lachancea thermotolerans</i> (LAN).....	58

LISTA DE QUADROS

<i>CAPÍTULO I</i>	15
QUADRO 1 - Classificação das Cerveja segundo o Instrução Normativa do Ministérios da Agricultura.....	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
BJCP	<i>Beer Judge Certification Program</i>
CIELAB	<i>Commission Internationale de l'Eclairage</i>
EBC	<i>European Brewery Convention</i>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
LAN	<i>Lachancea</i>
LAB	<i>Lactobacillus</i>
SRM	<i>Standart Reference Method</i>

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I - Perfil físico-químico, metabolômico e aceitabilidade da cerveja Catharina Sour elaborada com maracujá da caatinga e utilizando diferentes métodos de fermentação....</i>	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1 Cerveja.....	17
3.2 Cervejas artesanais.....	20
3.3 Fabricação de cervejas.....	20
3.4 Matérias primas produção de cerveja.....	22
3.4.1 Água.....	22
3.4.2 Malte.....	23
3.4.3 Lúpulo.....	24
3.4.4 Leveduras.....	25
3.4.5 <i>Lactobacillus</i>	26
3.4.6 <i>Lanchancea ssp.</i>	27
3.5 BJCP.....	28
3.5.1 Fruit Beer.....	28
3.5.2 Catharina Sour.....	29
3.6. Maracujá da Caatinga (<i>Passiflora cincinnatta mast.</i>)	30
3.7 Compostos bioativos da Cerveja e seus benefícios.....	33
3.8 Compostos Fenólicos	33
3.9 Análise sensorial.....	34
REFERÊNCIAS.....	36
 <i>CAPÍTULO II - Manuscrito: Influência do tipo de levedura no perfil metabolômico e aceitabilidade da cerveja Catharina Sour com Maracujá da Caatinga.....</i>	 42

Capítulo I

Perfil físico-químico, metabolômico e aceitabilidade da cerveja Catharina Sour elaborada com maracujá da caatinga e utilizando diferentes métodos de fermentação

1 INTRODUÇÃO

Com código X4 na atualização do site do BJCP (2021), o estilo *Catharina Sour* é originário do estado brasileiro de Santa Catarina, sendo a cerveja artesanal ácida criada no ano de 2015, com o objetivo de criar uma cerveja com ingredientes locais, adequada para se consumir no clima quente.

As características que definem as cervejas no estilo *Catharina Sour* é o uso de malte de trigo, originando uma bebida leve e refrescante, com boa acidez, originada da presença de ácido láctico a partir da ocorrência de fermentação, equilibrada, sendo obrigatória a adição de fruta, na forma fresca *in natura* ou como polpa. O baixo amargor, corpo leve, teor alcoólico moderado, e carbonatação moderadamente alta, permitem que o sabor e aroma da fruta sejam o foco principal da cerveja. A fruta é normalmente, mas não sempre, de natureza tropical. Pode ser complementada por especiarias, mas estas nunca devem sobrepor o caráter de fruta (BJCP, 2021).

No estilo *Catharina Sour* utiliza-se maltes do tipo *pilsen* e trigo, geralmente (50/50%). A acidificação da cerveja é em geral resultante da aplicação do método *kettle sour*, que consiste em acidificar a cerveja na tina de mostura com bactérias do gênero *Lactobacillus*, posteriormente é feita a fermentação alcoólica utilizando uma levedura do gênero *S. cerevisae*. A adição de fruta na cerveja é feita após a fermentação, na etapa chamada de maturação, fazendo-se a adição de um ou mais frutas, na forma *in natura* ou de polpa, ressaltando que é desejável que a bebida adquira um caráter que lembra a presença de fruta fresca (Silva, 2019).

O mercado cervejeiro vem buscando por inovações. Nesse sentido, algumas leveduras selvagens estão sendo isoladas e testadas para utilização em substituição as do gênero *S. cerevisae*, a exemplo da *Lanchancea* ssp., uma levedura não-*Saccharomyces* com capacidade de produzir o etanol e o ácido láctico simultaneamente, em uma única etapa fermentativa (Osburn *et al.*, 2018).

Este trabalho estudou dois tipos de métodos de fermentação, tradicional (*kettle sour*) e alternativo para a elaboração de cerveja artesanal no estilo *Catharina Sour* com adição de polpa de maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.), utilizando leveduras *Saccharomyces cerevisae* ssp. e *Lanchancea* ssp, respectivamente. O objetivo foi avaliar o impacto dos diferentes gêneros de leveduras no processo fermentativo, perfil físico-químico e metabolômico, e aceitabilidade do produto por consumidores. Além disso, propôs-se

desenvolver um novo tipo de cerveja artesanal utilizando maracujá-da-caatinga, um dos principais frutos extrativistas do Bioma da Caatinga de grande importância para a agricultura familiar do semiárido do Nordeste brasileiro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Desenvolver cerveja e processo para elaboração de cervejas no estilo Catharina Sour com adição de polpa de maracujá da caatinga, testando dois métodos fermentativos e gêneros distintos de leveduras.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o processo de fermentação láctica e alcóolica para a elaboração da cerveja no estilo Catharina Sour utilizando leveduras dos gêneros *Saccharomyces cerevisiae* ssp. e *Lanchancea* ssp e os métodos tradicional e alternativo, respectivamente;
- ✓ Avaliar o perfil físico-químico das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour, após a adição de polpa de maracujá da caatinga e engarrafamento;
- ✓ Identificar e quantificar os metabólitos do mosto de cerveja, da polpa de maracujá da caatinga e das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour;
- ✓ Avaliar a aceitação das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour por consumidores de cervejas artesanais.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Cerveja

A cerveja é uma das primeiras bebidas da história, veio com o advento da agricultura, a partir do desenvolvimento da humanidade e da organização coletiva, no qual o homem caçador vira agricultor e tendo a formação das civilizações, surgiu o cultivo de alimentos, a agricultura surgiu com os primeiros povos antigos, os egípcios, fenícios, babilônios, essa região era conhecida como região da Crescente Fértil, ia do Egito até a Mesopotâmia (Morado, 2017).

A cerveja não foi inventada, e sim descoberta, com o plantio de cereais para consumo, os grãos *in natura* eram de difícil digestão, então eram demolhados e utilizados no preparo de sopas, caldos ou mingaus, a descoberta veio através do mingau deixado para ser consumido no dia seguinte, no qual ficou efervescente e levemente alcoólico através do contato que teve com leveduras selvagens (Standage, 2005).

A cerveja inicialmente não tinha adição do lúpulo, que veio ocorrer depois do século X, e até se tornar obrigatório depois do século XVI na Alemanha, através da *Reinheitsgebot*, quando o duque Guilherme IV padronizou a produção de cerveja, destinando os cereais específicos (cevada) na produção, o uso de lúpulo e água, feita de fermentação espontâneas e sem conhecimento técnico das leveduras e sua função na produção da cerveja (Morado, 2017).

No Brasil, as cervejas chegaram depois da vinda da Família Real Portuguesa ao Brasil em 1808, a cerveja era importada de países como Alemanha, Inglaterra, Dinamarca, Holanda e Noruega, eram cervejas fortes e encorpadas, como do estilo *Porter*, em 1836 tem relatos da primeira cerveja produzida no Brasil, na cidade do Rio Janeiro (Cascudo, 2004).

As primeiras fábricas de cervejas vieram a surgir depois de 1870 no Brasil, a primeira fábrica surgiu no Rio Grande do Sul que tinha influencia alemã e italiana com o consumo de vinho, a Friedrich Christoffel foi a primeira cervejaria do país e já em 1878 produzia 1 milhão de garrafas, no Rio de Janeiro surgiu a Antártica em 1888 e em 1904 surge a Brahma em São Paulo (Cascudo, 2004; Santos, 2004).

Segundo relatório 2021/2022 do grupo alemão *Barth-Hass*, o Brasil é o 3º maior produtor mundial de cerveja, com uma produção de 14,3 bilhões de litros de , contra dos 20,3 bilhões dos Estados Unidos, e 35,9 bilhões da China, o Brasil está à frente de países

tradicionais como Alemanha que aparece 5º posição com produção de 85,4 bilhões e o Reino Unido que ocupa a 9º posição com 38,4 bilhões de litros (Barthaas, 2022).

O consumo de cerveja vem com o aumento de cervejarias, comparando o ano de 2000 com 2021, o Brasil teve um salto de 40 cervejarias para 1.549 cervejarias registradas no Ministério da Agricultura e Pecuária. Sendo em média, existe uma cervejaria para cada um dos 137.713 habitantes, apesar que a média de cervejarias por habitantes é proporcionalmente maior nas regiões sul e sudeste (BRASIL, 2022).

A média de registros de produtos é de 23,1 por cervejaria no Brasil, isso significa poder ser de cervejas com estilo diferentes ou até mesmo o produto com a composição igual, mas ao total são 35.741 produtos, a fração destinada para exportação apesar da alta quantidade de registros e cervejarias, uma parte da produção no Brasil é destinada para exportação (BRASIL, 2022). No Brasil, o consumo médio de cerveja é de 6 litros por mês de cerveja (SINDICERV, 2021).

As cervejas podem ser classificadas em relação a sua fermentação (*Ale, Lager e Lambic*). Nas cervejas tipo *ales*, a fermentação ocorre em cima do tanque de fermentação (alta fermentação), e com temperaturas na faixa entre 15-25°C, sendo utilizados variedades da levedura *Sacharomyces Cerevisae*, a alta fermentação tende a produzir cervejas mais aromáticas (Silva, 2019). As cervejas *lagers* tem a fermentação ocorrendo na parte baixa do tanque (baixa fermentação), ocorre na faixa entre 9-14°C, as leveduras utilizadas em maioria espécie *Saccharomyces pastorianus*, que produzem cervejas mais limpas e claras, tanto no aroma e no visual (Morado, 2017).

As cervejas do tipo *Lambic*, são cervejas feitas de fermentação espontânea, a fermentação ocorre por leveduras selvagens do próprio ambiente, as *Lambics* têm como característica os aromas e sabores complexos (Keersmaecker, 1996).

Segundo o Ministério da Agricultura (BRASIL, 2009), a cerveja é uma bebida resultante do mosto de cevada fermentando e com cocção prévia para adição do lúpulo ou extrato dele, apresenta o decreto menciona sobre o uso de outros cereais e adjuntos e classifica (Quadro.1) a cerveja em relação ao seu extrato primitivo, cor, teor alcoólico, proporção do uso do malte de cevada e tipo de fermentação.

Quadro 1 - Classificação das Cerveja segundo o Instrução Normativa do Ministérios da Agricultura

EXTRATO PRIMITIVO	Leve: apresenta extrato primitivo igual ou superior a 5% e inferior a 10,5%, em peso;
	Comum: apresenta extrato primitivo igual ou superior a 10,5% e inferior a 12%, em peso;
	Extra: apresenta extrato primitivo igual ou superior a 12% e inferior ou igual a 14%, em peso;
	Forte: apresenta extrato primitivo superior a 14%, em peso;
COR	Clara: a que tiver cor correspondente a menos de 20 unidades EBC (European Brewery Convention);
	Escura: que tiver cor correspondente a 20 ou mais unidades EBC;
	Colorida: que por ação de corantes naturais, apresentar coloração diferente das definidas no padrão EBC;
TEOR ALCOÓLICO	Cerveja sem álcool: que seu conteúdo em álcool for menor que 0,5% em volume, não sendo obrigatória a declaração no rótulo do conteúdo alcoólico;
	Cerveja com álcool: que seu conteúdo em álcool for igual ou superior a 0,5% em volume, devendo ser obrigatoriamente constar no rótulo o percentual de álcool em volume;
PROPORÇÃO DE MALTE DE CEVADA	Puro Malte: aquela que possuir 100% de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;
	Cerveja: que possuir proporção de malte de cevada maior ou igual a 50%, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;
	Cerveja com o nome do vegetal predominante: que possuir proporção de malte de cevada maior do que 20% e menor do que 55%, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares;
FERMENTAÇÃO	De baixa fermentação: quando a cerveja tem fermentação em baixa temperatura;
	De alta fermentação: quando a cerveja tem fermentação em alta temperatura.

Fonte: (BRASIL, 2009)

3.2 Cervejas artesanais

O mercado das cervejas artesanais é um mercado crescente junto ao surgimento das novas cervejarias, as microcervejarias surgiram no Brasil começo da década de 1980, sendo a região Sul e Sudeste terem as primeiras do país (Morado, 2017). O termo em relação a cerveja artesanal é que nessa microcervejarias, ocorrem a produção de cervejas diferenciadas, com maltes diferenciados, coloração diferente das convencionais, aromas e sabores diferenciados, a produção é industrial, mas numa escala de volume menor. As microcervejarias tem buscado mercado com a produção de cervejas diferenciadas, diferente das cervejas de massa produzida pelas grandes cervejarias, tem influência das cervejas da escola alemã, inglesa, belga e americana (SEBRAE/NA, 2017).

As cervejas artesanais podem ser produzidas em nano cervejarias, microcervejarias, *brewpubs* ou até nas grandes cervejarias, não existe um conceito e classificação e nem um limite mínimo e máximo de produção (BRASIL, 2022). As nano cervejarias segue o mesmo princípio das microcervejarias, mas não tendo as mesmas obrigações tributárias e fiscais que o governo cobra das microcervejarias, existem os *homebrewing* ou produtores caseiros que fazem a sua cerveja, a princípio pelo prazer da produção, posteriormente para troca de experiências e compartilhar conhecimento, associado à gastronomia e evitando a massificação (Ferreira *et al.*, 2011)

No Brasil existe a ABRACERVA (Associação Brasileira das Cervejarias Artesanais), entidade reúne as cervejarias artesanais, empresas da cadeia da bebida, reúne as cervejarias, cervejarias ciganas, sommeliers, fornecedores, pontos de venda e apoiadores da cerveja artesanal (Morado, 2017). Nos estados existem as ACERVA (Associação dos Cervejeiros Caseiros), que buscam discussões e atuações aos cervejeiros que buscam atuar no mercado cervejeiro (SEBRAE, 2017).

3.3 Fabricação de cerveja

A produção de cerveja é feita na produção do mosto cervejeiro (extração dos açúcares e componentes do malte e dos outros adjuntos utilizados); esse processo inicial é denominado de brasagem seguido da fervura (esterilização e caramelização do mosto e adição do lúpulo para

função antibactericida, amargor e aroma da cerveja); o processo posterior é o de fermentação alcoólica (consumo dos açúcares e produção de etanol e seus compostos) (Morado, 2017).

No processo de mosturação da cerveja, vai se trabalhar as principais matérias-primas (malte, adjuntos opcionais e água) na produção, o processo envolve temperatura e tempo aplicado para se trabalhar cada enzima presente do grão maltado; na faixa de 40-45°C/5-10min se trabalha beta-glucanase e fitase, que vai trabalhar o beta glucano (presente em grande quantidade na aveia, trigo e centeio) que causa viscosidade na cerveja, a fitase ajuda a diminuir o pH na mostura; na faixa de 50-55°C/10-15min se trabalha a protease, que vai fazer a quebra das proteínas, contribuindo para espuma e corpo da cerveja (Kunze, 2004).

A etapa mais importante no processo de mostura é a sacarificação, em que ocorre a conversão do amido em açúcares, a beta-amilase ocorre entre 55-65°C e extrai os açúcares fermentáveis (maltose, glicose), a alfa-amilase transforma o amido em açúcares não fermentáveis (dextrina) e ocorre entre 66-74°C, o processo é feito trabalhando em temperaturas médias entre as duas rampas, sendo uma rampa única, ou trabalhando uma de cada vez (maior tempo para beta, 45min/beta-15min/alfa, o processo dura de 60-75min. Posteriormente as enzimas do grão é inativado no processo de *mash-out*, as enzimas são inativadas para não ter alteração durante os processos posteriores de fervura e resfriamento, o processo ocorre na faixa de 75-78°C/10-15min (Mosher, 2018).

A cerveja passa pela filtração para separar o mosto clarificado do bagaço do malte, o próprio bagaço do malte ajuda no processo, por servir de uma cama filtrante. A filtração separa o mosto inicial recircula pelo bagaço para clarificar e depois é separado para uma nova tina no qual vai ser feita à fervura. Na segunda parte, é feita a adição de uma parte de água definida para lavar o grão (75°C/30min), esse processo é importante para extrair os açúcares e nutrientes retidos no bagaço, melhorando o rendimento do mosto cervejeiro (Mosher, 2018).

No processo de fervura, que visa trabalhar aspectos importante na cerveja, a conservação, segurança microbiológica, e a influência de aroma e sabores na cerveja. Na fervura, os aspectos de coloração, sabor e aroma na cerveja mudam, já que ocorre uma concentração do mosto no processo. É feito a adição do lúpulo para amargor, aroma e conservação, e dos adjuntos cervejeiros opcionais (açúcar, melado, frutas) se for utilizado, o processo ocorre a 100°C/60-90min, posteriormente é feito o resfriamento, para a separação do precipitado (*trub*), o mosto passa por aeração, pois o oxigênio é necessário para o crescimento e reprodução das leveduras no processo inicial de fermentação (Mosher, 2018).

Na fermentação, os açúcares fermentáveis serão convertidos em álcool e gás carbônico (CO₂) devido a levedura, esse processo é chamado de fermentação primária ou inicial. No processo seguinte, a maturação ou fermentação secundária, ocorre uma fermentação lenta dos compostos fermentáveis residuais e uma eliminação de compostos indesejados como diacetil no qual a levedura reabsorve e elimina, seguido disso é feito envase tanto em barris ou garrafas. (Silva, 2019).

3.4 Matéria primas produção de Cerveja

Entre os principais ingredientes bases utilizados na produção de cerveja, independente do estilo, vai a utilização de água, malte, lúpulo e levedura. A água é o ingrediente em maior quantidade, seguido do malte, lúpulo e levedura (Morado, 2017).

3.4.1 Água

A água é o ingrediente em maior composição na cerveja, representa em média mais de 90% da composição das cervejas, a depender do estilo feito. A água é essencial na cerveja pela composição iônica, a composição da água é importante para definir o estilo de cerveja a ser feito, as cervejas *lagers* utilizam água mole, cervejas do tipo *Stout* e *India Pale Ale (IPA)* utilizam água com maior teor de sulfato, que realçam a questão do amargor que o estilo pede (Oliver, 2021).

O que determinava a produção de cerveja em uma determinada região era a questão da fonte de água, como ocorria na região de Pilsen (República Tcheca) que produz cervejas *lagers*, em *Burton-upon-Trent* (Inglaterra) com as *Pale Ale*, a região da Valônia (Bélgica) que é conhecida por produzir *Saison*, mas hoje com o avanço dos estudos e tecnologias, qualquer água apropriada para um tipo de cerveja pode ser reproduzida em qualquer lugar do mundo, com a correção de minerais. (Silva, 2019; Oliver, 2021).

Os minerais presentes na água impactam em vários fatores da cerveja, no pH, pois é necessário no processo de mostura, um pH ácido na faixa entre 5,2 e 5,5 para ter um melhor

aproveitamento na conversão enzimática do malte, no sabor da cerveja, minerais como magnésio serve como nutriente para leveduras e sabor da cerveja, outros minerais essenciais para cerveja é o cálcio, bicarbonato, sódio, os sulfatos, que vão influenciar na questão do aroma, sabor e corpo da cerveja (Palmer, 2013).

A água utilizada na fabricação da cerveja deve atender padrões em relação a pureza, atendendo padrões sanitários, principalmente sobre os contaminantes químicos e biológicos (micro), no Brasil o fornecimento de água garante padrões que são determinados na legislação, nas cervejarias é necessário fazer um tratamento na água cervejeira, utilizando filtros para remoção de materiais orgânico e remoção de cloreto de sódio (BRASIL, 2011; Palmer, 2013).

3.4.2 Malte

O malte é qualquer cereal que passa pelo processo de malteação, que consiste em utilizar um grão selecionado (cevada, trigo, centeio, aveia, milho, sorgo) e colocar para germinar em condições controladas, o grão passa por umidificação para desenvolver o embrião e depois germinar, no processo a parede celular do grão, tendo formação das enzimas e modificação na estrutura do amido presente no grão, depois que o grão atinge o ponto ideal, o grão é seco com exposição ao calor para interromper a germinação, posteriormente o grão de malte dos pequenos caules formados no processo (Morado, 2017)

Na cerveja, se utiliza em maior quantidade os maltes bases (*pilsen, pale ale, vienna, munich*), por ter maior quantidade de enzimas, tem os maltes caramelo e cristal que passa por maior tempo de secagem e maior temperatura, que confere sabores e aromas destacados na cerveja como de casca de pão torrada, caramelo, biscoito, e maltes torrados ou escuros, que passam por uma temperatura maior, que confere notas de chocolate, café e torra na cerveja, quanto maior a temperatura de secagem e tempo de exposição, o malte perde eficiência enzimática (Kunze, 2004).

Os grãos de trigo, centeio ou aveia, são utilizados tanto malteado ou não, na forma de flocos pré-gelatinizados, esses grão são propícios se utilizado em grande quantidade (40-60%) para cervejas propícias ao uso do cereal (*Roggenbier, Witbier, Weissbier*), conferem sabores e aromas típicos do grão, fornecem maior quantidade de proteínas na cerveja, tendo uma retenção de espuma, corpo mais intenso e aveludado que as cervejas feita só com cevada, se esse grão

passarem por malteação, também pode posteriormente passar por caramelização e torrefação (BJCP, 2021; Morado, 2017).

As principais enzimas presentes nos maltes quando se trabalha a conversão na mostura é beta glucanase (35-45°C), que trabalha os beta-glucanos e deixa o mosto menos viscoso, a protease (46-55°C), que trabalha na degradação das proteínas do grão que trabalha a espuma e corpo da cerveja e as enzimas de sacarificação, beta-amilase (60-65°C) e alfa-amilase (65-71°C), seguido da inativação dos grãos (Silva, 2019).

A cevada é o grão mais utilizado na produção de cerveja, o malte da cevada é o melhor grão na questão de fornecer açúcares e enzimas, isso devido ao seu poder diastático, melhor conversão e fornecimento de açúcares para formação do etanol presente na cerveja, além de fornecer vitaminas e minerais necessários para a levedura no processo de fermentação (Kunze, 2004; Silva, 2019).

Os grãos de trigo, centeio ou aveia, são utilizados tanto malteado ou não, na forma de flocos pré-gelatinizados, esses grão são propícios se utilizado em grande quantidade (40-60%) para cervejas propícias ao uso do cereal (*Roggenbier*, *Witbier*, *Weissbier*), conferem sabores e aromas típicos do grão, fornecem maior quantidade de proteínas na cerveja, tendo uma retenção de espuma, corpo mais intenso e aveludado que as cervejas feita só com cevada, se esse grão passarem por malteação, também pode posteriormente passar por caramelização e torrefação (BJCP, 2021; Morado, 2017).

3.4.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus L.*) é uma planta que pertence à família das *Cannabinaceae*, utilizada para conferir amargor e aroma na cerveja, além da função antibactericida, protegendo a cerveja de micro-organismos indesejados, o lúpulo se desenvolve melhor em regiões temperadas e com maior tempo de exposição solar, os maiores produtores de lúpulo são Estados Unidos, Alemanha, República Tcheca e China (Barthaas, 2022; Morado, 2017).

Da planta, que é um tipo de trepadeira perene, se utiliza as flores da planta fêmea, as resinas amargas que estão presentes na flor, o lúpulo também contém polifenóis que durante o processo de fervura e resfriamento na cerveja, ajuda na clarificação da cerveja, precipitando proteínas excedentes e melhorando a espuma da cerveja, os lúpulos podem ser encontrados

frescos se a produção de cerveja for perto da colheita, secos, ou em forma de *pellets* (prensados) (Silva, 2019).

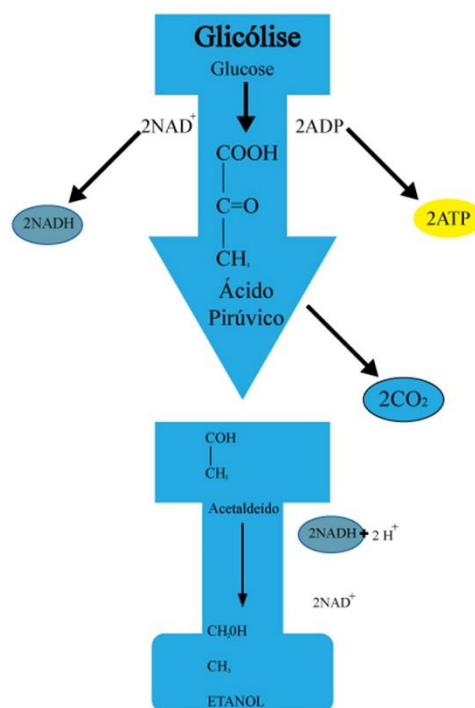
O lúpulo é composto por sua maioria de resinas totais (15-30%), óleos essenciais (0,5-3%), polifenóis (4%), monossacarídeos (2%), os alfa-ácidos representam cerca de (5-13%) do percentual das resinas, enquanto os beta-ácidos representam (3-8%). O amargor que o lúpulo proporciona na cerveja em maior parte é através dos alfa-ácidos (Comuhulona e Humulona), extraídos pela isomerização através do calor, o processo de fervura na cerveja que ocorre essa alteração (Roberts, 2016).

3.4.5 Leveduras

As leveduras são microrganismos eucarióticos unicelulares que pertencem ao Reino *Fungi*. É importante no processo de fermentação da cerveja, a levedura converte o açúcar do mosto cervejeiro em álcool, dióxido de carbono (CO₂) e outros compostos que influencia na questão de aroma e sabor da cerveja (Speers & Forbes, 2015). Existem mais de 1000 espécies de leveduras conhecidas, que representa uma fração das que existem na biodiversidade da terra, as leveduras já são utilizadas pelos humanos há milênios, na produção de cerveja, vinho e pão, a levedura mais utilizada e estudada é da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que é referenciada como levedura de pão (Walker, 2009).

A reprodução das *Sacharomyces* ocorre de forma assexuada ou sexuada, podem crescer entre 0°C a 47°C, mas a temperatura ideal para seu crescimento está na faixa mesófila de 25°C a 30°C, crescem numa faixa de pH mais baixo (4,0-4,5) do que outros microrganismos, não se reproduzem bem numa faixa de pH mais alcalina (Bullerman, 2003).

Na cerveja o processo de fermentação alcoólica (FIG.1) ocorre quando uma levedura consome os açúcares presentes no mosto (maltose, glucose, frutose), transformando em etanol e gás carbônico, também ocorre a produção de compostos de aroma (*flavor*) e sabor, esse são considerados subprodutos da fermentação (Silva, 2019).

Figura 1 - Fermentação Alcoólica

Fonte : Akhtar et al., 2018.

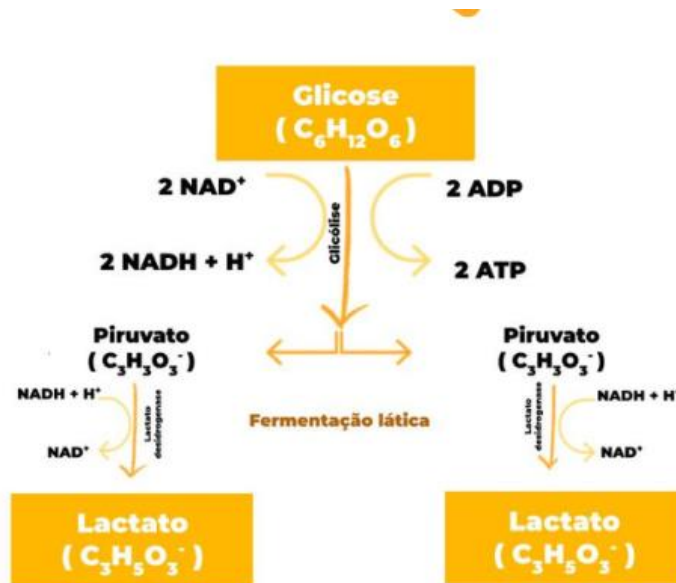
3.4.5 *Lactobacillus*

Os *Lactobacillus* correspondem a um gênero de bactérias que produzem ácido láctico, são bactérias gram-positivas, aeróbicas ou anaeróbicas. São bactérias utilizadas principalmente na fabricação de laticínios fermentados, alimentos fermentados com carne ou vegetais, ou como probióticos. Em produtos lácteos, como leites fermentados e queijos, os *Lactobacillus* tem múltiplos efeitos, variando da espécie, cepa, condições de fabricação e os produtos (De Angelis; Gobbetti, 2011).

O gênero *Lactobacillus* geralmente é dividido em 3 grupos, baseado nas vias de fermentação: (1) homofermentativo obrigatório, (2) heterofermentativo facultativo, e (3) heterofermentativo obrigatório. Os dois papéis benéficos mais óbvios dessas bactérias são como culturas iniciais (para produzir ácido láctico) e como culturas probióticas (De Angelis; Gobbetti, 2011).

Os *Lactobacillus* produzem ácido láctico através da fermentação láctica (FIG.2), com o consumo de glicose, sendo gerado ácido láctico, dióxido de carbono (CO₂) e ATP (adenosina trifosfato). A produção de ácido láctico nos alimentos fermentados inibe o crescimento de outras bactérias, sendo utilizada na produção de cervejas ácidas e vinhos, principalmente tintos (Malo; Urquhart, 2016).

Figura 2- Fermentação Láctica



Fonte: Oliveira et al., 2021.

3.4.6 *Lachancea ssp.*

As leveduras do gênero *Lachancea ssp.* começaram a ser discutidas por Kurtzman (2003), depois de fazer uma reclassificação nos gêneros das leveduras, baseado no parentesco genético, em vez das semelhanças fenotípicas. Antes a classificação era dentro dos gêneros das *Zygosacharomyces*, *Kluyveromyces* e *Sacharomyces* (Kurtzman, 2003). A classificação era feita em agrupamento pelos respectivos gêneros, com base na morfologia das células vegetativas e estados sexuais, bem como testes de fermentação e crescimento (Kurtzman; Robnett, 2003; Fell; Statzell-Tallman; Kurtzman, 2004).

O uso de algumas espécies de *Lachancea* já foram testadas na produção de vinhos e cervejas, é uma levedura com capacidade na produção de etanol e ácido láctico no mosto de forma simultânea, sendo uma alternativa ao uso das *Saccharomyces cerevisiae ssp.*, convencionalmente utilizadas na produção das duas bebidas (Domizio et al., 2016; Morata et al., 2018).

3.5 BJCP

Uma das entidades conhecidas por avaliação de cerveja e aceita mundialmente é o *Beer Judge Certification Program Inc.* (BJCP). Uma organização sem fins lucrativos fundada no Colorado (Estados Unidos), em 1985, durante a *American Homebrewers Association Annual Conference*, tem como objetivo certificar críticos e avaliadores de cerveja. O BJCP apresenta em seu guia cervejas, hidromel e sidra, abrange 121 estilos reunidos em 35 grupos (Morado, 2017). O BJCP considera as denominadas 4 escolas cervejeiras, sendo Alemanha com algumas cervejas da República Tcheca, Áustria e Polônia; Bélgica, Inglaterra e Estados Unidos, alguns países fora do eixo buscam catalogar um tipo de cerveja no estilo, quando o estilo de cerveja fica como provisório, para depois ser aceito em definitivo, países como Brasil e Argentina entraram com pedido de registro de estilo (Morado, 2017).

3.5.5 Fruit Beer

Fruit Beer é qualquer estilo de cerveja (*Weiss*, *Witbier*) feito com a adição de fruta, pode ser utilizada qualquer fruta (maçã, pera, morango, mirtilo, entre outras), não tendo uma determinação de limite da quantidade e em qual período vai ser adicionado na produção da cerveja (fervura, fermentação, maturação). As *Fruit Beers* estão na categoria 29A do BJCP e suas variações em relação de ingredientes utilizado, algumas (BJCP, 2021).

Dentro da categoria 29 no BJCP, existe algumas subcategorias dentro das *Fruit Beers* no BJCP, existe suas subcategorias; as *Fruits and Spiced Beer* (29B) que vai o uso de temperos e especiarias(pimenta do reino, baunilha semente de coentro; as *Specility Fruit Beer*(29C) que leva ingredientes adicionais(lactose, mel, adoçantes); e as *Grape Ale*(29.D) que geralmente são cervejas de base belga(Sainso, Blonde, Single) com mosto de uva(tintas ou brancas) (BJCP, 2021).

Entre alguns estudos de produção de cervejas com adição de frutas no Brasil, tem cervejas Catharina Sour feita com adição de Mirtilo; Araçá-boi(*Eugenia Stipita*) e Pitaya, também tem cervejas feitas com adição de Graviola (*Annonamuricata*) e Maracujá (*Passiflora edulis Sims*) (Luz et al., 2022)

Estudos demonstram que uso o uso de frutas como (cereja, pêssgo, maçã, framboesa e damasco) adicionadas em quantidade de 5-30% na cerveja aumenta a quantidade dos compostos bioativos e da atividade antioxidante comparados com cervejas convencionais (Nardini e Garuso, 2020).

3.5.6 Catharina Sour

Catharina Sour é um estilo de cerveja brasileiro recém adicionado no catálogo do BJCP, o estilo entrou com pedido de registro na categoria 29, das *Fruits beers*, o estilo surgiu em 2015, através de cervejeiros caseiros no estado de Santa Catarina, derivou do estilo alemão *Berlinne Weisse* da categoria X4 do guia, no que é uma cerveja *ale* leve de trigo com fermentação lática, sendo uma cerveja de sabor ácido, a diferença do estilo Catharina Sour, é obrigatório o uso de frutas na cerveja (BJCP, 2021).

O estilo é feito tradicionalmente através do método *kettle sour* (FIG.3), no qual é feito a brassagem tradicional, mas com uma etapa para adificidicar a cerveja, fazendo a inoculação de bactérias do ácido láctico no mosto para poder baixar o pH e produzir ácido láctico na cerveja. (Silva, 2019)

Figura 3 - Fluxograma de Produção de Catharina Sour



Fonte: Adaptado de Silva (2019).

3.6 Maracujá Da Caatinga (*Passiflora cincinnata mast.*)

O maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata mast*) pertence aos mais de 200 de tipos de espécies de maracujás nativos do Brasil, é conhecido popularmente como maracujá-da-caatinga, maracujá-de-boi e maracujá-do-mato (Araujo *et al.*, 2019). O maracujá da caatinga (FIG.4) é um tipo de maracujá azedo que detém uma extensa distribuição no território brasileiro, seu cultivo é de forma espontânea na região do Semiárido, sendo o bioma da Caatinga a principal área de produção (Faleiro *et al.*, 2016).

Figura 4 - Maracujá da Caatinga (*Passiflora Cincinnata Mast.*)



Fonte: Embrapa (2016).

O maracujá da caatinga é fruto de uma herbácea semiperene (2-3 anos de vida), é um tipo de planta trepadeira, normalmente glabra, com caule cilíndrico ou subangular, é comum nas regiões de mata do Pantanal do Mato Grosso, da parte Central do Brasil, Pará, Minas Gerais, São Paulo e Nordeste do país (Lorenzi, 2015; Araujo *et al.*, 2019).

Suas folhas são palmatipartidas, descolores e subcóriáceas, medindo de 4-8cm de comprimento, com pecíolo de 2-5cm com 2 glândulas localizadas a 1 cm da base foliar, com estípulas linear-subuladas, de bordos finos e serrilhados, de 6-15mm de comprimento. Flores solitárias perfumadas, de 7-12 de diâmetro, formadas de outubro a dezembro (Lorenzi, 2015). Apresenta frutos globosos, do tipo baga, lisos geralmente verdes, a polpa é succulenta de sabor

ácido e doce, revestido de sementes negras, o período de maturação do fruto ocorre entre janeiro e maio (Lorenzi, 2015).

Estudos demonstram que o maracujá da caatinga tem maior resistência ao déficit hídrico em regiões como do Semiárido. O maracujá da caatinga por apresentar resistência e fácil plantio nessas regiões, foi avaliado para estudos de melhoria dos seus genes, a EMBRAPA desenvolveu o BRS Sertão Forte, selecionando variedades do maracujá da caatinga de várias regiões, com o propósito de desenvolver um maracujá com melhor rendimento do seu fruto e melhor condição de plantio (Araujo *et al.*, 2019; Neto *et al.*, 2017).

Alguns estudos feitos com *Passiflora Cincinatta* Mast. apresentam benefícios a saúde, contém propriedades anti-flamatórias e antinociceptivo a (redução do estímulo da dor) devido a presença dos seus compostos fenólicos (Lavor *et al.*, 2018). Também com pesquisas relacionadas por ter efeito antibiótico (Siebra *et al.*, 2018).

O fruto do maracujá da caatinga pesa entre 109 g a 212 g, sua polpa tem coloração amarelo-clara a esbranquiçada e apresenta em média na quantidade de sólidos solúveis de 8° brix a 13°brix nas variações. A polpa tem rendimento baixo que varia de 35% com extração manual em peneira, e de 50% quando se extrai em despoldadeira rotativa (Araujo *et al.*, 2019). Em relação a sua composição, o maracujá da caatinga (*Passiflora cincinatta* Mast.) é uma fruta rica em ácidos orgânicos, sendo os seus principais ácidos o ácido cítrico e málico, a presença de compostos fenólicos e carotenoides (Santos *et al.*, 2021).

As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) são descritas como plantas ou partes delas aptas para consumo, mas que não fazem parte de nossos hábitos alimentares. Muitas delas sendo tradicionais em uma região ou culturas. A expressão não convencional vem é relacionado a planta ser nativa ou exótica, e que também não está na grande cadeia produtiva dos alimentos, e por isso acaba sendo desconhecida e ignoradas por uma parte da população (Bass *et al.*, 2020).

O maracujá da caatinga está entre algumas do PANCs da Caatinga, assim como o umbu, caju da caatinga e mangaba da caatinga, o maracujá da caatinga vem sendo utilizado com o cultivo através da agricultura familiar, e a produção ligada a polpa para produção de sucos e doces como geleia, devido a grande quantidade de pectina presente na fruta, que possibilita a produção (Camacam e Messias, 2022).

As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs), ou, também chamados de “matos comestíveis”, São vegetais com alto potencial nutricional que raramente são consumidos ou vendidos, seja por falta de conhecimento ou por questões culturais (Padilha *et al.*, 2017). As PANCs geralmente são cultivadas apenas por pequenos produtores e em escala nacional. Variam de plantas nativas e atípicas a plantas exóticas e silvestres que são utilizadas direta e indiretamente na alimentação, como vegetais, frutas, nozes, óleos, amido de grãos e até especiarias e corantes naturais. Muitos dos PANCs são rústicos, o que significa que raramente são atacados por pragas, requerem pouca manutenção e podem ser fertilizados em locais não convencionais, como beira de estradas ou terrenos não urbanizados (Silva e Andrade, 2022).

3.7 COMPOSTOS BIOATIVOS DA CERVEJA E SEUS BENEFÍCIOS

A cerveja é uma bebida com benefícios a saúde humana, é uma bebida rica em composto fenólicos provenientes do malte e do lúpulo, em média de 20 a 30% vem dos maltes e 70 a 80% dos lúpulos, as cervejas do tipo *ale* com maltes torrados e maior adição de lúpulo apresentam maior concentração dos compostos fenólicos. (Dias; Koblitz, 2021) . O uso de diferentes cepas de leveduras *S.cerevisae* influenciam na questão da formação dos álcoois, ácidos e sabores da cerveja, diferentes leveduras também vão influenciar na preservação e formação dos compostos fenólicos da cerveja (Viana *et al.*, 2021).

A cerveja é uma bebida rica nos compostos fenólicos, cerca de 70-80% dos polifenóis totais vem do malte e 30-20% vem dos lúpulos (Quifer-Rada *et al.*, 2015). O uso de frutas que é comum em alguns estilos de cerveja também contribui com os compostos fenólicos na cerveja, o uso de frutas é feito na fermentação ou no preparo do mosto, isso influencia na extração da quantidade dos compostos, assim como da atividade antioxidante (Nardini; Foddai, 2020).

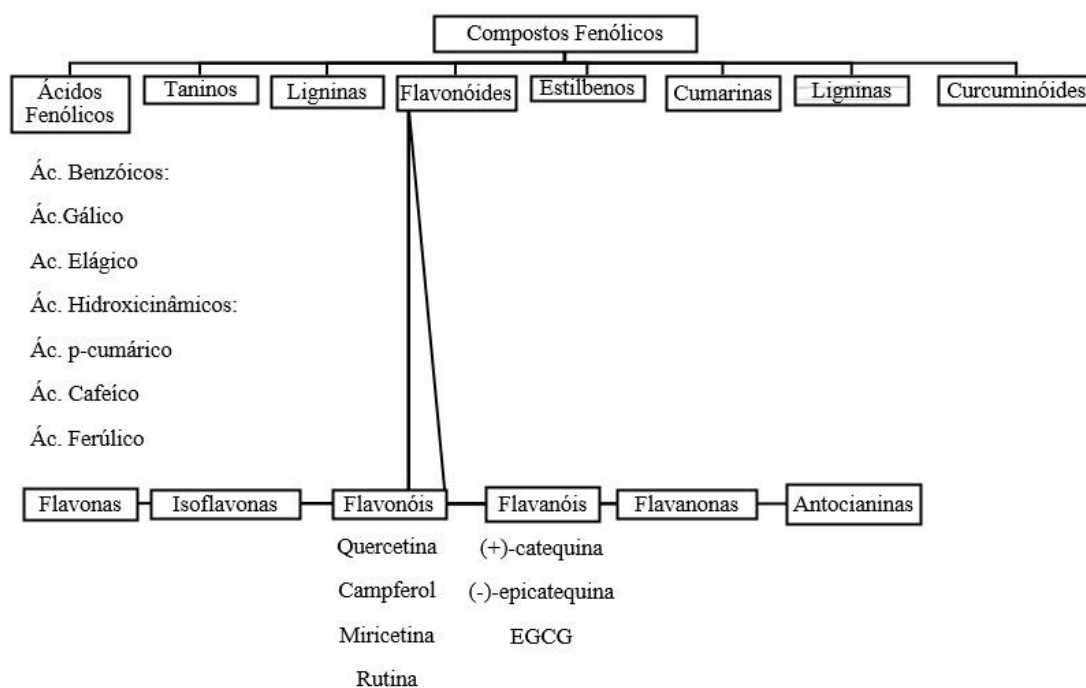
A cerveja é um produto com uma acidez suave, o malte de cevada possui um pH entre 4,0-5,0, cervejas do tipo *ale* possuem um pH entre 3-6. Os ácidos orgânicos são subprodutos excretados pelas leveduras. A função mais importante dos ácidos orgânicos é aumentar a acidez tornando a bebida agradável sensorialmente ao paladar humano (Araújo *et al.*, 2003).

3.8 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos pertencem aos grupos diversos de metabolitos secundários sintetizados de plantas e vegetais, atuam como agente de defesa a estresses causados aos frutos e vegetais, confere adstringência, cor, sabor e aroma. (Arnosso *et al.*, 2019). O consumo frequente dos compostos através dos alimentos é relacionado aos benefícios da saúde humana e combate de doenças cardiovasculares, diabetes, câncer (Côrrea e Angelis-Pereira, 2014).

Os compostos fenólicos são categorizados nos seguintes grupos (FIG 5): ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos, taninos, ligninas, cumarinas, curcuminóides e quinonas. (Basli, Belkacem e Amrani, 2017).

Figura 5 - Principais Classes de compostos fenólicos.



Fonte: Adaptado de Basli, Belkacem e Amrani (2017).

Os ácidos fenólicos são compostos polifenólicos não flavonóides que podem ser divididos em dois tipos principais, ácido benzóico(C6-C1) e derivados do ácido cinâmico (C6–C3) (Tsao, 2010). Entre os ácidos hidroxibenzóicos, os principais são o gálico e o elágico, encontrado principalmente em vegetais (Basli, Belkacem e Amrani, 2017). Presentes em

algumas plantas e alimentos, os ácidos hidroxicinâmicos são mais comuns do que os ácidos hidroxibenzóicos e consistem principalmente de p-cumárico, caféico e ácidos ferúlico, sendo o caféico o maior um dos mais abundantes e encontrados em muitas frutas, o ácido ferúlico é encontrado principalmente em grãos e cereais (Manach *et al.*, 2004). Os flavanóides é o mais abundante e diversos dos compostos fenólicos encontrados.sua estrutura é montada pelo esqueleto C6-C3-C6, é amplamente encontrado em plantas (Silva; Barreira; Oliveira, 2016).

Nos grupos dos flavonoides está incluso as flavonas, isoflavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas e antocianinas (Fig.5). Dos flavonóis a quercetina, o campferol, a miricetina e a rutina, quercetina-3-Orutinosídeo, que é o glicosídeo da quercetina. Assim como, são importantes flavanóis a (+)-catequina, (-)-epicatequina e a epigallocatequina-3-galato (EGCG), um derivado da catequina que é o éster da epigallocatequina e do ácido gálico (Basli, Belkacem e Amrani, 2017).

Os compostos fenólicos também estão presentes na cerveja e são importantes para a saúde humana, pois foi comprovado que muitos deles possuem atividades antitumoral e antioxidante, o que fornece dados valiosos para estudos de inclusão moderada de cerveja na dieta. Os compostos fenólicos estão associados aos benefícios na saúde humana, o consumo baixo moderado de cerveja está ligado na redução de riscos cardiovasculares sendo semelhantes ao vinho (Gaetano *et al.*, 2016).

3.9 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial de alimentos e bebidas é feita utilizando normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas com o objetivo de definir termos na prática, é uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993).

A análise sensorial é uma ferramenta importante para a indústria alimentícia que busca satisfazer os seus consumidores, pensando na demanda de um mercado competitivo. Os testes sensoriais foram se tornando assim obrigatórios na indústria alimentícia (Bento; Andrade; Silva, 2013).

A análise sensorial se baseia-se em técnicas fundamentais para a percepção psicológica e fisiológica, depende de julgamento feito por humanos, tendo seus atributos sensoriais relacionados aos órgãos dos sentidos (olfato, tato, paladar, visão e audição) que descrevem aspectos como aroma, textura, sabor e cor, e são estritamente ligados à composição química e seus aspectos físicos que definem a avaliação do provador; local da análise, assimilações de um certo alimento, estado emocional e de saúde e formas que o produto foi apresentado influenciam no quesito entre outros. A evolução dos estudos de análise sensorial e métodos de aplicação trazem resultados eficientes mesmo perante esses fatores (Alamar, 2020; Dutcosky, 2019)

REFERÊNCIAS

ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12806: análise sensorial dos MOSHER**, Randy. **Radical Brewing: receitas, contos e ideias transformadoras em um copo de cerveja**. Editora Krater, 2022.

ALAMAR, P, D. **Análise sensorial** / Priscila Domingues Alamar. Editora e Distribuidora Educacional S.A, Londrina/PR, 2019.

ARAÚJO, F.B. ; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Food Science and Technology**, v. 23, p. 121-128, 2003.

ARNOSO, B,J,D, M; COSTA, G,F; SCHMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v. 18, n. 1, p. 39-48, 2019.

BARTHHAAS. **BarthHaas Report 2021/2022**. BarthHaas GmbH & Co. KG. Nuremberg. 2022.

BASLI, A.; BELKACEM, N.; AMRANI, I. Health benefits of phenolic compounds against cancers. **Phenolic compounds-biological activity**, v. 10, p. 5772-67232, 2017.

BENTO, R, D, A.; ANDRADE, S, A, C. ; SILVA, A, M, D. **Análise sensorial de alimentos**. Recife-PE: ETecBrasil, v. v. 1, 2013. Disponível em: <http://proedu.ifce.edu.br/handle/123456789/950>.

BJCP. **Beer Judge Certification Program/Guia de Estilos 2021**. BJCP,Inc. 2022. Disponível em: <https://www.bjcp.org/bjcp-style-guidelines/>.

BRASIL. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. **ANUÁRIO DA CERVEJA 2021**. BRASÍLIA-DF. 2022.

BRASIL. *Ministério da Agricultura e Pecuária* . **DECRETO Nº 6.871, DE 4 DE JUNHO DE 2009. Lei nº 8.918/1994**, BRASÍLIA,DF, 05 de junho de 2009.

BRASIL, *Ministério Da Saúde*. **PORTARIA Nº 2.914, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2011**, Brasília-DF, 12 de dezembro de 2011.

BULLERMAN, L.B. SPOILAGE | Fungi in Food – An Overview. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)**, 2003. 5511-5522. Acesso em: 4 Nov 2022.

CAMACAM, B. L. M. .; MESSIAS, C. M. B. de O. **Food potential of fruits and plants of the caatinga: integrative review**. Research, Society and Development, [S. l.], v. 11, n. 9, p. e39911931997, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i9.31997..

CASCUDO, L D. C. **História da Alimentação do Brasil / Luis da Câmara Cascudo**. 3°. ed. São Paulo - SP: Global, 2004.

DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M.. Lactic Acid Bacteria | Lactobacillus spp.: General Characteristics. **Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)**,p 78-80, 2011.

DOMIZIO, P. *et al.* Lachancea thermotolerans as an alternative yeast for the production of beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, n. 4, p. 599-604, 2016.

DUTCOSKY,S, D. **Análise sensorial de alimentos / Silvia Deboni Dutcosky**. 5. ed., rev. – Curitiba/PR : PUCPRESS, 2019. 540 p. ; 23 cm. (Coleção Exatas ; v. 4).

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília: Brasília, DF: Embrapa, 2016.

FALEIRO, F. G. **Cultivo de Passiflora cincinnata Mast. cv. BRS Sertão Forte**. Petrolina: Embrapa Semiárido. 11 p. (Circular técnica, 119). 2019.

FELL, J, W.; STATZELL-TALLMAN, A. ; KURTZMAN, C, P. Lachancea meyersii sp. nov., an ascosporeogenous yeast from mangrove regions in the Bahama Islands. **Stud Mycol**, v. 50, p. 359-363, 2004.

FERREIRA, H, R.; VASCONCELOS, M, C, R, L.; JUDICE, V, M ,M.; NEVES, J ,T, D, R. Inovação na fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte. **Perspectivas em Ciência da Informação**, v. 16, p. 171-191, 2011.

GAETANO, G, D.; COSTANZO, S.; CASTELNUOVO, A, D.; BADIMON, L.; BEJKO, D.; ALERWI, A.; CHIVA-BLANCH, G.; ESTRUCH, R.; VECCHIA, C, L.; PANICO, S.; POUNIS.; SOFI, F.; STRANGES, S.; TREVISAN.; URSINI, F.; CERLETTI.; DONATI, M, B.; IACOVIELLO, L. Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, n. 6, p. 443-467, 2016.

KEERSMAECKER, J. D. The mystery of lambic beer. **Scientific American**, v. 275, n. 2, p. 74-80, 1996.

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

KURTZMAN, C. P.; ROBNETT, C. J. Phylogenetic relationships among yeasts of the 'Saccharomyces complex' determined from multigene sequence analyses. **FEMS yeast research**, v. 3, n. 4, p. 417-432, 2003.

LAVOR, E. M. D *et al.* Ethanolic extract of the aerial parts of *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae) reduces nociceptive and inflammatory events in mice. **Phytomedicine**, v. 47, p. 58-68, 2018.

LORENZI, HARRI. **Frutas no Brasil nativas e exóticas: (de consumo in natura)** / Harri Lorenzi, Túlio Côrtes de Lacerda, Luis Benedito Bacher. SÃO PAULO-SP: Instituto PLantarum da Flora, 2015.

LUZ, I. T. D; SILVA, V. D. M; GODOY, J. S; LAJÚS, C. R; COLPANI, G. L; MELLO, J. M, M. D; DALCATON, F. **Cerveja Estilo Catharina Sour: Uma Breve Revisão Da Literatura**. Engenharias: pesquisa, desenvolvimento e inovação / Organizadores Henrique Ajuz Holzmann, João Dallamuta. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

MALO, P. M.; URQUHART, E. A. Fermented Foods: Use of Starter Cultures. **Encyclopedia of Food and Health**, 2016.

MANACH, C. ; SCALBERT, A. ; MORAND, C. ; RÉMÉSY, C. ; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MORADO, Ronaldo. **Larousse da cerveja: A história e as curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo**. 1ª edição (22 setembro 2017). ed. São Paulo -SP: Editora Alaúde, 2017.

MORATA, A.; LOIRA, I.; TESFAYE, W.; BAÑUELOS, M. A.; GONZÁLES, C.; LEPE, J. A. ,S. *Lachancea thermotolerans* applications in wine technology. **Fermentation**, v. 4, n. 3, p. 53, 2018.

MOSHER, Randy. **Radical Brewing: receitas, contos e ideias transformadoras em um copo de cerveja**. Editora Krater, 2018.

NARDINI, M. ; FODDAI, M, S. Phenolics profile and antioxidant activity of special beers. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2466, 2020.

NETO, B. P, C. da; BEZERRA, W. H. F.; AIDAR, S. de T.; CHAVES, A. R. de M.; ARAUJO, F. P. de; FALEIRO, F. G.. **Comportamento ecofisiológico de Passiflora cincinnata e seu desempenho como porta-enxerto de Passiflora edulis sob deficit hídrico**. Jornada de iniciação científica da Embrapa Semiárido, Anais Embrapa Semiárido, p. 200-205, Embrapa Semiárido Petrolina, 2017.

OLIVEIRA, G.; PEDROSO, R.; RODRIGUES, M, V.; HORNINK,G. **Infográfico - Fermentação lática na cerveja** - Projeto Cerveja com Ciência. Universidade Federal de Alfenas. ALFENAS, MG. 2021. Disponível em : https://www.researchgate.net/publication/355118829_Infografico_-_Fermentacao_latica_na_cerveja_-_Projeto_Cerveja_com_Ciencia?channel=doi&linkId=616041a7e7993f536ca67aed&showFulltext=true#fullTextFileContent

OLIVER, Garrett. **A mesa do mestre-cervejeiro**: descobrindo os prazeres das cervejas e das comidas verdadeira / Garrett Oliver ; com fotografias de Denny Tillman ; tradução de Anthony Cleaver. São Paulo-SP: SENAC São Paulo, 2021.

OSBURN, K.; AMARAL, J.; METCAL, S, R.; NICKENS, D, M.; ROGERS, C, M.; SAUSEN, C.; CAPUTO, R.; MILLER, J.; LI, H.; TENESSEN, J, M.; BOCHMAN, M, L. Primary souring: a novel bacteria-free method for sour beer production, **Food microbiology**, v, 70, p, 76-84, 2018.

PALMER, John J. **Water**: a comprehensive guide for brewers / by John Palmer and Colin Kaminski. Boulder - Colorado: Brewers Publications , 2013.

QUIFER-RADA, Paola *et al.* A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC–ESI-LTQ-Orbitrap-MS). **Food chemistry**, v. 169, p. 336-343, 2015.

PEREIRA, R, C; ANGELIS-PEREIRA, M , C, D. **Compostos fenólicos na saúde humana: do alimento ao organismo** / Rafaela Corrêa Pereira, Michel Cardoso de Angelis-Pereira. – Lavras : Ed. UFLA, 2014.

ROBERTS, T, R. Chapter 3 - Hops. In: W.BAMFORTH, Charles **Brewing Materials and Process**: A practical approach to beer excellence. [S.l.]: Elsevier,. p. 47-75, 2016.

SANTOS, T, B. *et al.* Phytochemical compounds and antioxidant activity of the pulp of two brazilian passion fruit species: *Passiflora cincinnata* Mast. and *Passiflora edulis* Sims. **International Journal of Fruit Science**, v. 21, n. 1, p. 255-269, 2021.

SANTOS, S, D, P. **Os Primórdios da Cerveja no Brasil / Sérgio de Paula Santos**. 2º. ed. Cotia - SP: Ateliê Editorial, 2004.

SEBRAE/NA. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Estudo sobre Microcervejaria. **Biblioteca Interativa SEBRAE**, 11 jan 2017.

SIEBRA, Ana Luiza A. *et al.* Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi journal of biological sciences**, v. 25, n. 1, p. 37-43, 2018.

SILVA, B, V, D.; BARREIRA, J, C, M.; OLIVEIRA, M, B, P, P. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 144-158, 2016.

SILVA, Carlos H. P. D. M. E. **Microbiologia da Cerveja: do Básico ao Avançado, o Guia Definitivo**. 1ª edição (1 janeiro 2019). ed. São Paulo: Livraria da Física, 2019. 372 p.

SILVA, R. N. P. da .; DIAS, J. F.; KOBLITZ, M. G. B. Beers: relationship between styles; phenolic compounds and antioxidant capacity. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e42210313471, 2021.

SINDICERV. Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja. SINDCERV Notícias, 2021. Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/noticias/brasil-e-o-terceiro-pais-onde-mais-se-consome-cerveja-no-mundo/>. Acesso em: 1 dez. 2022.

SPEERS, A.; FORBES, J. 1 - Yeast: An overview. Yeast: an overview. **Brewing Microbiology**, p. 3-9, 2015.

STANDAGE, TOM. **História do Mundo em 6 Copos/Tom Standage; tradução Antônio Braga**. 1º. ed. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 2005.

TSAO, Rong. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, v. 2, n. 12, p. 1231-1246, 2010.

VIANA, A, C.; PIMENEL, T, C.; DO VALE, R, B.; CLEMENTINO, L, S.; JANURIO, E, T. ; MAGNANI, M.; LIMA, M, D, S. American pale Ale craft beer : Influence of brewer's yeast strains on the chemical composition and antioxidant capacity. **LWT**, v. 152, p. 112317, 2021.

DA SILVA, B, V.; BARREIRA, J, ,C M.; OLIVEIRA, M, B, P, P. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 144-158, 2016.

WALKER, G. M. Yeasts. In: **Desk encyclopedia of microbiology**. Academic Press/Elsevier, 2009. p. 1174-1187.

Capítulo II

***Manuscrito: Influência do tipo de levedura no perfil metabolômico e aceitabilidade da
cerveja estilo Catharina Sour com Maracujá da Caatinga***

INFLUÊNCIA DO TIPO DE LEVEDURA NO PERFIL METABOLÔMICO E ACEITABILIDADE DA CERVEJA ESTILO CATHARINA SOUR COM MARACUJÁ DA CAATINGA

RESUMO

Catharina Sour é um estilo brasileiro de cerveja ácida já registrada internacionalmente e muito apreciada entre consumidores de cervejas artesanais, sendo obrigatória em sua composição a presença de fruta e de ácido láctico resultante de fermentação láctica. O objetivo do estudo foi avaliar a influência de dois métodos fermentativos, utilizando gêneros distintos de leveduras, no perfil metabolômico e aceitabilidade da cerveja elaborada no estilo Catharina Sour com maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast). Para o método tradicional (*kettle sour*), foi conduzida fermentação láctica seguida de fermentação alcoólica, com adição de bactérias *Lactobacillus buchneri* e leveduras American Ale *Saccharomyces cerevisiae*, respectivamente. Pelo método alternativo, foram adicionadas somente leveduras *Lachancea thermotolerans*, capazes de produzir além do etanol, o ácido láctico, fazendo simultaneamente as fermentações láctica e alcóolica. Os resultados mostraram que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* proporcionou melhor rendimento do processo fermentativo, com maior produção de etanol ($32,75 \text{ g L}^{-1}$), glicerol ($4,65 \text{ g L}^{-1}$), ácido láctico ($4,71 \text{ g L}^{-1}$), açúcares e compostos fenólicos. Entretanto, destaca-se também o potencial da levedura *Lachancea thermotolerans* para a produção de cervejas ácidas, uma vez que promoveu a elaboração de produto com boa aceitação entre consumidores a um valor inferior, já que elimina o custo da aquisição de culturas comerciais de bactérias lácticas. De modo geral, a adição de polpa de maracujá da caatinga enriqueceu o potencial nutracêutico da cerveja Catharina Sour, aumentando os teores de compostos bioativos, entre eles: miricetina, hesperidina, ácido *trans*-caftárico, *trans*-resveratrol, procianidinas A2 e B1 e (+)-catequina.

PALAVRAS-CHAVES: Cervejas artesanais, bioma Caatinga, *Kettle Sour*, *Lachancea* ssp., compostos bioativos.

1. INTRODUÇÃO

2.

Catharina Sour é um estilo brasileiro de cerveja, criada por cervejarias sendo seu conceito originado a partir de cerveja estilo Berliner Weisse, inovando-a com a adição de frutas. Entre os anos de 2014-2016, a Associação de Micro Cervejarias Artesanais de Santa Catarina (ACASC) junto com as cervejarias artesanais locais criou a cerveja no estilo Catharina Sour e começou a incentivar a produção pelo país (ESCM, 2021), estando hoje registrada no guia mundial de estilos de cerveja BJCP (*Beer Judge Certification Program*).

Trata-se de uma cerveja de trigo, leve e refrescante, com uma acidez equilibrada, devido a predominância de ácido láctico, sendo obrigatória a adição de frutas em sua composição, na forma de fruta *in natura* ou polpa (até 20%). O baixo amargor, corpo leve, teor alcoólico moderado (4,0% a 5,5%), e a carbonatação moderadamente alta, permitem que o sabor e o aroma da fruta se destaquem nesse estilo de cerveja (BJCP, 2021; SILVA, 2019).

Para a elaboração de cervejas no estilo Catharina Sour é aplicado geralmente o método *Kettle sour*, mundialmente usado na produção de cervejas ácidas (*Sour beer*). Nesse método, o mosto passa por uma fervura curta de 15 minutos sem lúpulo, depois é resfriado para inoculação da bactéria láctica (*Lactobacillus* spp.). Quando o mosto de cerveja alcança o nível de acidez desejada e pH entre 3,0-3,2, o mosto é fervido novamente para interromper a fermentação láctica e é iniciada a fermentação alcoólica, após a adição de leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (SILVA, 2019).

O uso de bactérias *Lactobacillus* spp. em cervejas ácidas já é antigo, existindo várias espécies exclusivas para essa finalidade, a exemplo: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus buchneri* (DYSVIK *et al.*, 2019; RUSSELL; BHANDARI; WALKER, 1954).

A crescente busca por inovação no mercado cervejeiro e redução de custos, principalmente para a produção de cervejas artesanais, levou a uma busca por novos insumos cervejeiros, entre diferentes tipos de malte, lúpulo e leveduras. Assim, para a produção de cervejas ácidas, já vem sendo testadas leveduras não-*Saccharomyces*, a exemplo do gênero *Lachancea* spp., capazes de produzir além do etanol, o ácido láctico, já que realizam as fermentações láctica e alcóolica simultaneamente em uma única etapa fermentativa (DOMIZIO *et al.*, 2016).

A utilização de leveduras *Lachancea* ssp. para a produção de cervejas ácidas começou a ser estudado por Kurtzman *et al* (2003), após uma seleção de novos gêneros de leveduras para a produção de cerveja, com base na similaridade de perfil genético e cinética fermentativa comparativamente com leveduras *Saccharomyces cerevisiae* ssp. (FELL; STATZELL-TALLMAN; KURTZMAN, 2004; KURTZMAN e ROBNETT., 2003). Entretanto, o uso de diferentes cepas de leveduras deve ser mais bem estudado, já que se sabe que pode impactar o perfil metabolômico da cerveja, alterando as concentrações de compostos voláteis, fenólicos, açúcares, ácidos orgânicos, álcoois, entre outros metabólitos, e a qualidade sensorial da bebida (DYSVIK *et al.*, 2019; VIANA *et al.*, 2021).

O uso de frutas é comum em cervejas, agregando aroma, sabor e até mesmo o potencial nutracêutico da bebida, dependendo do tipo de fruta, quantidade adicionada e etapa de adição no processo de produção (NARDINI; GARAGUSO, 2020). O maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast) é uma das 200 espécies de maracujá encontradas no Brasil. Esta espécie é produzida de forma extrativista por agricultores familiares que habitam o Semiárido da região Nordeste do Brasil, sendo considerado como um dos mais importantes frutos do bioma Caatinga (ARAUJO, *et al.*, 2019).

É um fruto rico em compostos bioativos, com destaque para os compostos fenólicos. Em relação a sua composição, o maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.) é uma fruta rica em ácidos orgânicos, sendo os seus principais ácidos, o ácido cítrico e málico (SANTOS *et al.*, 2021).

Esse estudo objetivou avaliar a influência de métodos dos processos fermentativos, que utilizam gêneros distintos de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* spp e *Lachancea* ssp), composição físico-química, perfil metabolômico e aceitabilidade da cerveja elaborada no estilo Catharina Sour com adição de maracujá da caatinga.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Metanol, acetonitrila, persulfato de potássio, ácido sulfúrico, ácido ortofosfórico, fosfato de potássio monobásico, e os padrões de álcool etílico e glicerol foram obtidos da da

Merck(Darmstadt, Alemanha). Padrões de ácido gálico, ácido clogênico, ácido *trans-caftárico*, hesperedina, proacnidina B1, (+)-catequina e (-)- epicatequina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os estilibenos cis-reveratrol e *trans-revesveratrol* foram adquiridos da Cayman Chemical Company (Michigan, EUA). (-)-galato epigallocatequina, (-)-galato epicatequina, procianidina A2, kaempferol-3-*O*-glicosídeo, quercetina-3- β -D-glucosídeo, e miricetina foram comprados da Extrasynthese (Genay, França). Padrões de ácidos orgânicos (acético, málico, cítrico, láctico, propiônico, succínico e fórmico) foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil), e de açúcares(glicose, frutose, rhamnose e maltose) da Sigma-Aldrich (St Louis, MO, EUA).

A água ultrapura foi obtida em sistema de purificação (Marte Científica, São Paulo, Brasil).

3.2 Polpa de maracujá da caatinga

O maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast) utilizado foi adquirido de produtores da região de Petrolina-PE (Latitude: 9° 23' 39" Sul, Longitude: 40° 30' 35" Oeste). Após o despolpamento em despolpadeira elétrica, a polpa passou por tratamento de desacidificação com a adição de 8,6 g L⁻¹ de desacidificante enológico (Desacid®, AEB BIOQUÍMICA, São José dos Pinhais-PR, Brasil) para redução da acidez e elevação do pH de 2,8 para 3,3. Na sequência, a polpa foi despectinizada com a aplicação de 0,05g L⁻¹ de enzima pectinolítica (Endozym Pectofruit®, AEB BIOQUÍMICA, São José dos Pinhais-PR/Brasil), durante 2h a temperatura por 45°C, e pasteurizada a 85°C durante por 30 segundos.

3.3 Produção da cerveja

Para a produção da cerveja foram utilizados 6,5kg de malte de pilsen (Bahia Malte, Salvador, Brasil) e 6,5kg de malte de trigo (Swaen, Holanda). O mosto inicial foi obtido por brasagem, que consistiu na adição de água mineral aquecida ao malte de pilsen e trigo misturados em panela cervejeira de aço inoxidável com capacidade de 71L (CentralBrew, São

Paulo Brasil), obtendo-se 66L de mosto. Para essa etapa, a temperatura inicial foi de 55°C (10 min), sendo aumentada para 67°C por 60min, e depois para 75°C (10min). O mosto após brassagem apresentou pH igual a 5,6, 10°Brix de sólidos solúveis, densidade de 1,040 g mL⁻¹ e IBU (*International Bitterness Unit*) igual a 3 (BJCP, 2021).

Na sequência, 33L de mosto foram destinados para a produção em triplicata de cerveja Catharina Sour pelo método tradicional *kettle sour*, codificado como LAB, com fermentação láctica e alcoólica separadas, a partir da adição de 10mL L⁻¹ de bactéria *Lactobacillus buchneri* (Levtek, Santa Catarina, Brasil) e depois 10mL L⁻¹ de levedura American Ale *Saccharomyces cerevisiae* (TeckBrew 10, Levtek, Santa Catarina, Brasil). O restante foi utilizado para a produção de cerveja Catharina Sour pelo método alternativo, codificado como LAN, também em triplicata. Para LAN, a levedura adicionada foi a *Lachancea thermotolerans* (WildBrew Philly sour™, Lallemand Brewing, Canada) na dosagem de 0,6g L⁻¹ (SILVA, 2019).

Para a elaboração do tratamento LAN, o mosto foi previamente fervido durante 1h a 100°C com adição de 0,75g L⁻¹ do lúpulo perle (5% alfa-ácido, Barth Hass, Alemanha). Nos 15 minutos finais da etapa, foram adicionadas duas pastilhas floculantes de algas marinhas “*whrifloc*” (Bahia Malte, Salvador, Brasil), possibilitando que ocorresse o “*trub*”, que proporciona a sedimentação de micropartículas do mosto clarificando-o. Na sequência, a fermentação láctica e alcoólica do mosto foram iniciadas simultaneamente, após o resfriamento do mosto até 25°C com o resfriador de imersão do tipo “*chiller*”. Já para a elaboração do tratamento LAB, o mosto inicialmente ferveu até 100°C (15min) e depois foi resfriado a 35°C para iniciar a fermentação láctica. Para iniciar a fermentação alcoólica, o mosto foi fervido novamente (1h a 100°C) com adição do lúpulo perle e “*whifloc*”, nas mesmas quantidades de LAN, sendo realizado o “*trub*” e o resfriamento de forma semelhante a LAN (SILVA, 2019).

No tratamento LAB, a fermentação láctica ocorreu a temperatura de 37°C, sendo controlada em panela cervejeira de aço inoxidável, e finalizada quando o pH do mosto reduziu para 3,2 (duração de 2 dias). Para a fermentação láctica e alcoólica do mosto do tratamento LAN e fermentação alcoólica do mosto LAB, os mostos foram colocados em garrafões de vidro com válvula do tipo *airlock* de 9L e mantidos a 20°C em câmara refrigerada com controle de temperatura. Após o término das fermentações de LAN e LAB, que foram praticadas utilizando o mesmo tempo de duração (total 11 dias), a polpa do maracujá da caatinga foi adicionada aos garrafões na proporção de 10% em peso, permanecendo em maceração no mosto de cerveja durante quatro dias (20°C). Não foi elaborado tratamento sem a adição de polpa de maracujá-

da-caatinga, uma vez que para a produção de cerveja no estilo Catharina Sour é obrigatória a adição de fruta, na forma *in natura* ou de polpa.

Na sequência, foi realizada a etapa de estabilização a frio e clarificação por 18 dias (0°C), com adição de 1,0g L⁻¹ de sílica coloidal (Eversol®, Ever, Rio Grande do Sul, Brasil) como agente clarificante. Durante o envase da cerveja, foi adicionado açúcar (8g L⁻¹) para que ocorresse o processo de carbonatação na garrafa. Para essa adição, o açúcar foi previamente diluído em água quente (100°C) na proporção de 1:1.

3.4 Controle do processo de fermentação

Durante toda a etapa de fermentação dos tratamentos LAB e LAN, foram realizadas análises diárias para determinação dos teores de sólidos solúveis e densidade, a partir de leitura direta em balança hidrostática digital Super Alcomat (Gilbertini, Itália), e pH, utilizando pHmetro portátil (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil). Também foi realizada a contagem de leveduras em câmara de Neubauer com uso de microscópio óptico para determinar a viabilidade celular (ANDRIETTA; ANDRIETTA, 2000). Essa análise só teve início no mosto do tratamento LAB após o término da fermentação láctica (48h).

Ao longo da fermentação, os álcoois (etanol e glicerol) e açúcares (frutose, glucose e maltose) também foram quantificados. A análise desses metabólitos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando cromatógrafo Agilent 1260 Infinity Cromatografia LC System (Agilent Technologies, Santa Clara – EUA) e detector de índice de refração RID (modelo G1362A) (HPLC/RID), seguindo a metodologia de Ball e Lloyd (2011), com as modificações propostas por Viana *et al.*, (2021). Foram retiradas alíquotas do mosto inicial de LAN e de LAB (após finalização da fermentação láctica), e dos mostos em fermentação alcóolica com 1, 4, 7, 9 (final da fermentação para LAB) e 11 dias (final da fermentação para LAN). Essas alíquotas foram filtradas em membrana de nylon de 0,45 µm (Millex-HA, Millipore, Badford, MA) e injetadas no volume de 10µL no cromatógrafo. Coluna de troca iônica Agilent Hi-Plex H (300 × 7,7 mm) com partículas internas de 8,0 µm, protegida por uma pré-coluna PL Hi-Plex H (5 × 3 mm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), foi utilizada para a separação dos compostos com temperatura do forno mantida em 60°C. A fase

móvel foi constituída de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) na concentração de $0,004 \text{ mol L}^{-1}$, com fluxo de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ e o tempo total da corrida foi de 20 minutos.

3.5 Análises físico-químicas e colorimétricas nas cervejas

Após o engarrafamento, foram determinados nas cervejas obtidas dos tratamentos LAB e LAN os teores de extrato seco e álcool, após destilação da cerveja em destilador enológico Super Dee (Gilbertini, Itália) e leitura na balança hidrostática digital Super Alcomat, além de acidez total, a partir de titulação com $\text{NaOH } 0,1\text{N}$, acidez volátil, após destilação por arraste a vapor no Super Dee e titulação com solução de $\text{NaOH } 0,1\text{N}$, e pH, utilizando pHmetro portátil previamente calibrado (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) (IAL, 2008).

Os parâmetros de cor das cervejas foram analisados por espectrofotômetro (Modelo Espectrofotômetro SP-220, Biospectro, Brasil) e colorímetro portátil (modelo Delta Vista 450G, Delta Color, Rio Grande do Sul, Brasil). Foram colocadas alíquotas de cervejas filtradas em cubeta de quartzo e foi realizada a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 430nm. Os resultados foram expressos em SRM (*Standart Reference Method*), onde a absorbância a 430nm foi multiplicada por 12,7. Os parâmetros colorimétricos avaliados utilizando colorímetro foram: L^* - luminosidade [branco (0) a preto (100)], a^* - coordenada vermelha/verde [vermelho (+) a verde (-)], b^* - amarelo/azul coordenar [amarelo (+) para azul (-)], C^* - cromaticidade ou saturação, e o ângulo h - matiz ou tonalidade (EBC,2010).

3.6 Determinação de metabólitos nas cervejas

As quantificações de compostos fenólicos, ácidos orgânicos e açúcares nas cervejas engarrafadas foram realizados em cromatógrafo líquido Agilent 1260 Infinity Cromatografia LC System (Agilent Technologies, Santa Clara – EUA), acoplado aos detectores de Arranjo de diodos DAD (modelo G1315D) e RID.

Os álcoois foram determinados por HPLC/RID, utilizando o mesmo método citado no item 2.3. Os compostos fenólicos foram determinados por RP-HPLC/DAD, utilizando método validado por Padilha *et al.*, (2017) e adaptado por Dutra *et al.*, (2018). As cervejas foram

previamente filtradas em membrana de 0,45 μm (Millex-HA, Millipore, Badford, MA) e injetadas no volume de 20 μL . Coluna Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 $\times$ 4,6 mm, 3,5 μm) e pré-coluna Zorbax C18 (12,6 $\times$ 4,6 mm, 5 μm) (Zorbax, EUA) foram utilizadas para a separação dos compostos, com temperatura do forno mantida em 35°C. A fase A foi constituída por ácido fosfórico (H_3PO_4) em solução aquosa a 0,52% (pH = 2,0), e como fase B foi utilizado metanol acidificado com 0,52% de ácido ortofosfórico. As condições cromatográficas por eluição por gradiente foram: 0 a 5 min - 5% fase B e 95% fase A; 5-14 min - aumenta para 23% de B; 14-30 min – aumento para 50% de B; 30-33 min – aumento para 80% de B. Todos os compostos fenólicos quantificados apresentaram curvas de calibração com $R^2 > 0,996$. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para os compostos determinados foram inferiores a 0,12 mg L^{-1} e superiores a 0,28 mg L^{-1} , respectivamente.

Ácidos orgânicos e açúcares foram determinados simultaneamente por HPLC-DAD/RID de acordo com a metodologia validada por Coelho *et al.*, (2018). As cervejas foram filtradas em membrana de nylon de 0,45 μm e injetadas no volume de 10 μL . Ácidos orgânicos foram detectados em DAD a 210 nm e os açúcares usando o RID. Coluna de troca iônica Agilent Hi-Plex H (300 $\times$ 7,7 mm) com partículas internas de 8,0 μm protegida por um PL Pré-coluna Hi-Plex H (5 $\times$ 3 mm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), foram utilizadas para a separação dos compostos, com temperatura do forno foi mantida a 70°C. A fase móvel foi constituída por uma solução de H_2SO_4 a 4 mmol L^{-1} com fluxo de 0,6 mL min^{-1} .

Todos os ácidos e açúcares quantificados apresentaram curvas de calibração com $R^2 > 0,997$. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram inferiores a LOD $< 0,044 \text{ g L}^{-1}$ e superiores LOQ $> 0,151 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente.

3.7 Avaliação sensorial das cervejas

Para a realização da análise sensorial, a pesquisa foi previamente aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa (protocolo CAAE 4417021.5.0000.5189). Cem voluntários (52 mulheres e 48 homens, com idades entre 21 e 65 anos), funcionários da Embrapa Semiárido, Petrolina-PE, e funcionários e estudantes do curso superior de Viticultura e Enologia do Instituto Federal do Sertão Pernambucano, Campus Petrolina. O critério de seleção foi consumir cerveja artesanal pelo menos uma vez a cada 15 dias, gostar de suco de maracujá e conhecer o maracujá da caatinga.

O teste de consumidor foi realizado em cabines individuais sob luz branca, com temperatura controlada ao redor de 22°C. As amostras de cerveja (30mL) foram servidas a temperatura de 8 ± 2 °C, em taças de cristal em formato de tulipa, codificadas com três dígitos, e cobertas com vidros de relógio para evitar perda de compostos voláteis e em ordem monádica. Os voluntários foram orientados a enxaguar a boca duas vezes com água mineral por 20 segundos entre as amostras. Os consumidores avaliaram a aceitação das cervejas Catharina Sour com maracujá da caatinga obtidas dos tratamentos LAB e LAN, com relação à aparência, aroma, sabor e impressão global, utilizando escala hedônica híbrida (VILLANUEVA *et al.*, 2009), ancorada nos extremos com os termos “1 = desgostei extremamente” e “9 = gostei extremamente”, à esquerda e direita, respectivamente. Na mesma sessão de teste, os consumidores avaliaram a intensidade dos atributos acidez e sabor de maracujá utilizando escala não estruturada de 9cm, ancorada nos extremos com os termos “pouco” e “muito”.

3.8 Análise estatística

Os dados obtidos das análises físico-químicas, cromatográficas e sensoriais foram submetidos à ANOVA e teste T de comparação de médias para duas amostras ($p \leq 0,05$) utilizando o software XLSat (Addinosoft Inc, Paris, France, 2019).

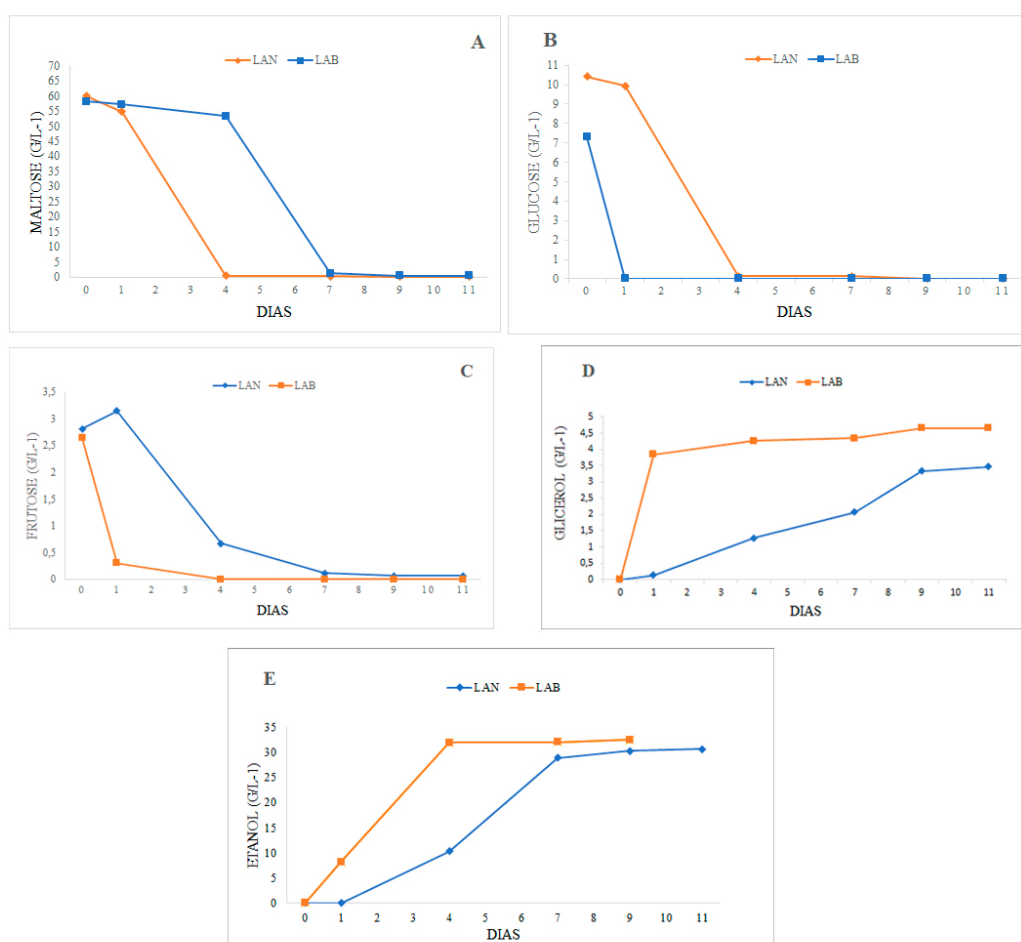
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Mudanças físico-químicas e no perfil de metabólitos durante o processo fermentativo

A Figura 1 apresenta mudanças no perfil de metabólitos durante o processo de fermentação do mosto de cerveja Catharina Sour, produzida a partir das leveduras American Ale *Saccharomyces cerevisiae* (LAB) e *Lachancea thermotolerans* (LAN). A Figura 2 apresenta as variações em parâmetros físico-químicos e viabilidade celular das leveduras ao longo da fermentação. Verifica-se na Figura 1, que o mosto inicial de LAN apresentava maior concentração de maltose ($55,86\text{g L}^{-1}$), seguido de glucose ($9,95\text{g L}^{-1}$) e frutose ($2,81\text{g L}^{-1}$). Já o mosto inicial de LAB, que passou por uma etapa anterior de fermentação láctica e maior tempo de fervura, apresentou uma concentração maior de maltose que LAN ($59,85\text{g L}^{-1}$), porém menos

glucose ($7,95\text{g L}^{-1}$) e frutose ($2,64\text{g L}^{-1}$). Estes três açúcares são produzidos durante o processo de brasagem do mosto, a partir da conversão do amido do malte (ALFEO *et al.*, 2021; DACK *et al.*, 2017). Os açúcares presentes no mosto de cerveja são utilizados pelas leveduras para gerar os produto e subprodutos ao longo do processo fermentativo, como o etanol (produto), ácidos succínico e acético, ésteres, aldeídos, entre outros, modificando o aroma e sabor da bebida final (SILVA, 2019).

Figura 1 - Gráficos mostrando as mudanças nos perfis de metabólitos durante o processo de fermentação alcoólica dos mostos de cervejas estilo Catharina Sour elaborados com as leveduras American Ale *Saccharomyces cerevisiae* (LAB*) e *Lachancea thermotolerans*



(LAN), são eles: (A) maltose, (B) glucose, (C) frutose, (D) etanol, e (E) glicerol.

*O início da avaliação do mosto do tratamento LAB ocorreu após o término da fermentação láctica e adição das leveduras, sendo o tempo total de fermentação alcóolica de nove dias, enquanto para LAN o tempo de fermentação foi de 11 dias.

O gênero de levedura utilizado para a elaboração da cerveja no estilo Catharina Sour, influenciou no tempo de consumo dos açúcares durante o processo fermentativo (Fig 1). No tratamento LAB com levedura American Ale *Saccharomyces cerevisiae*, com quatro dias de fermentação a maltose já havia sido convertida quase que em sua totalidade em outros compostos, restando $0,42\text{g L}^{-1}$ (Fig 1A). Enquanto a glucose e a frutose diminuíram drasticamente em concentração logo no primeiro dia de fermentação, chegando a $0,00$ e $0,30\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Fig 1 B e C). Por sua vez, no mosto do tratamento LAN com levedura *Lachancea thermotolerans*, o consumo expressivo de maltose só ocorreu após sete dias de fermentação, diminuindo para $1,29\text{g L}^{-1}$. Já a concentração de frutose e glicose diminuíram consideravelmente somente após 4 dias de fermentação

Ao final da etapa de fermentação alcohólica o mosto de cerveja LAB alcançou as maiores concentrações de etanol ($32,48\text{g L}^{-1}$) e glicerol ($4,65\text{g L}^{-1}$), conforme mostram as Figuras 1D e E. Enquanto o mosto do tratamento LAN, com 11 dias de fermentação apresentou concentrações menores dos álcoois quantificados, contendo $30,64\text{g L}^{-1}$ de etanol e $3,47\text{g L}^{-1}$ de glicerol. Na produção da cerveja pelo tratamento LAB, a concentração de etanol elevou-se e estabilizou logo no quarto dia da fermentação alcoólica, já pelo tratamento LAN, somente no sétimo dia do processo é que aconteceu um aumento significativo no teor desse metabólito, e seu conteúdo se estabilizou somente com 11 dias. A formação do glicerol no mosto do tratamento LAB elevou-se logo no primeiro dia de fermentação, atingindo $3,85\text{g L}^{-1}$ e depois continuou crescendo até $4,65\text{g L}^{-1}$. No mosto do tratamento LAN, a formação de glicerol teve um comportamento diferente e mais lento, aumentando gradativamente a partir do 4º dia ($1,28\text{g L}^{-1}$) até atingir $3,47\text{g L}^{-1}$ no último da fermentação. Assim, constata-se que o tratamento LAN demorou mais tempo para finalizar o processo fermentativo. Esses resultados apontam também para um melhor rendimento do processo fermentativo a partir do uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, uma vez que a taxa de conversão de açúcar em álcool do tratamento LAB foi superior à LAN.

Os açúcares no processo fermentativo de cervejas ácidas também são consumidos para a formação de ácidos orgânicos, entre eles o lático (DYSVIK *et al.*, 2020). Assim a Fig 2A mostra que os valores do pH dos mostos de cerveja de LAN e LAB reduziram-se ao longo da fermentação, sobretudo nos primeiros dois dias do processo, possivelmente em função do aumento da concentração de íons H^+ durante a fermentação láctica. Para o mosto do tratamento LAB, o pH estabilizou-se após o quarto dia de fermentação em torno de 3,20. O valor de pH do

mosto de LAN estabilizou-se no mesmo intervalo de tempo, atingindo, porém, um valor maior, ao redor de 3,40.

Adicionalmente, na Figura 2B verifica-se uma grande queda das densidades dos mostos dos tratamentos LAB após quatro dias de fermentação e LAN após o sétimo dia. Essa variação das densidades justifica-se pelo aumento significativo no consumo de sólidos solúveis (incluindo açúcares) no mesmo período (Figura 2D). Ao mesmo tempo, a Fig 2C mostra que a viabilidade celular foi máxima no quarto e quinto dia de fermentação do tratamento LAB, e entre o sexto e oitavo dia de fermentação do tratamento LAN. Adicionalmente, é importante ressaltar que, no tratamento LAB as leveduras apenas foram adicionadas no terceiro dia do processo fermentativo, quando acabou a fermentação láctica. Contudo, destaca-se que, ainda que pelo método tradicional sejam necessárias duas fermentações, o processo fermentativo foi mais eficiente do que pelo método alternativo (LAN).

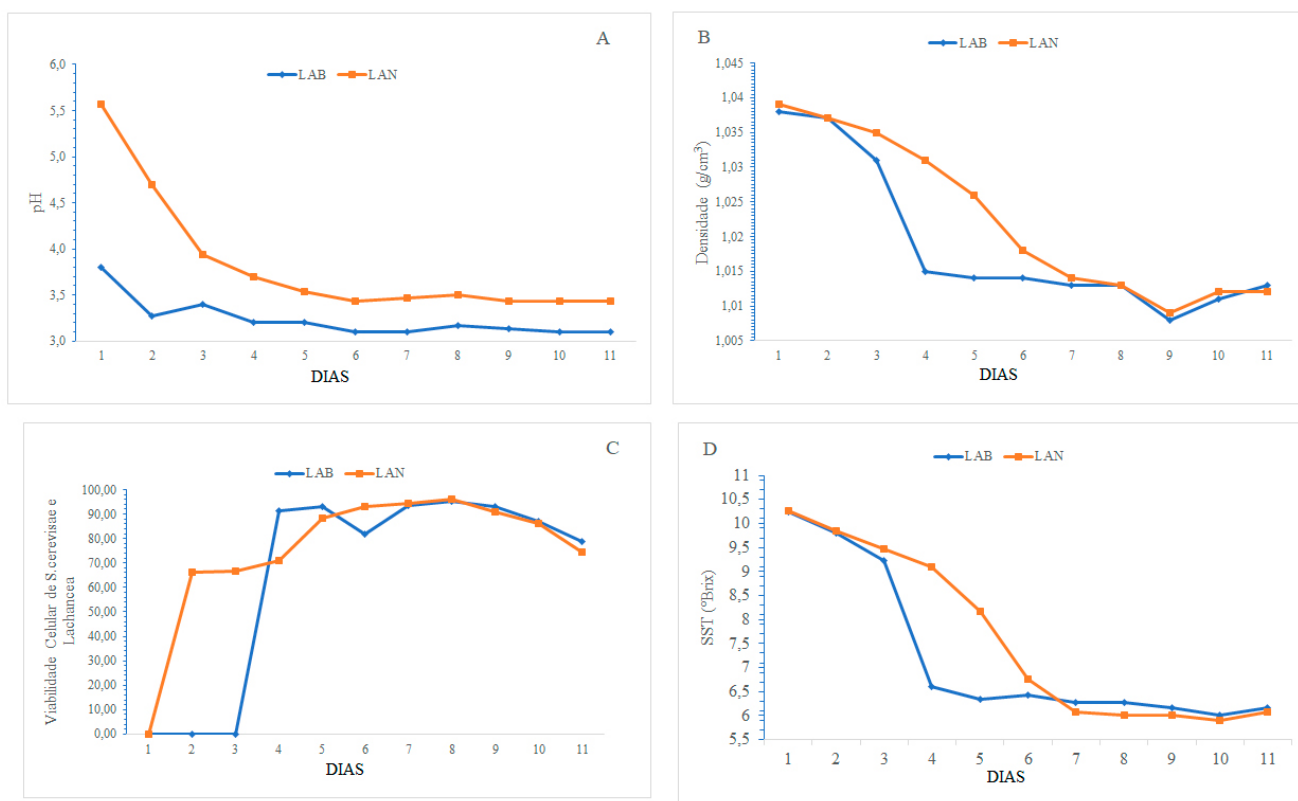


Figura 2 - Gráficos mostrando as mudanças físico-químicas e a viabilidade celular durante o processo de fermentação láctica e alcóolica dos mostos de cervejas estilo Catharina Sour elaborados com as leveduras American Ale *Saccharomyces cerevisiae* (LAB*) e *Lachancea thermotolerans* (LAN), onde: A) pH; B) densidade; C) viabilidade celular; e D) sólidos solúveis – SST. *A avaliação da fermentação do mosto de cerveja do tratamento LAB iniciou-se na fermentação láctica, assim as leveduras foram adicionadas somente no terceiro dia do processo, enquanto em LAN as leveduras foram adicionadas no primeiro dia.

4.2 Características físico-químicas e perfil de metabólitos das cervejas

As Tabelas 1 e 2 apresentam a composição físico-química e os perfis de ácidos, açúcares, álcoois e compostos fenólicos das cervejas Catharina Sour com maracujá da caatinga produzidas utilizando as leveduras dos gêneros American Ale *Saccharomyces cerevisiae* (LAB) e *Lachancea thermotolerans* (LAN). Os dados da Tabela 1 mostram que as quantidades de açúcares residuais na cerveja LAB, com 1,75g L⁻¹ de maltose e 1,17g L⁻¹ de frutose, foram maiores quando comparadas com a cerveja LAN, que apresentou 0,51g L⁻¹ de maltose e 0,51g L⁻¹ de frutose. A cerveja LAB também se destacou no conteúdo residual de sólidos solúveis residuais (6,17°Brix). Adicionalmente, observou-se a presença de rhamnose (0,18g L⁻¹) na cerveja LAN. Pode-se atribuir a formação da rhamnose a adição de polpa de maracujá da caatinga. A rhamnose é derivada de glicosídeos dos flavonóis, como a rutina e quercetina (DADIC; BELLEAU, 1980). O maracujá da caatinga apresenta significativa quantidade de flavonóis ligados aos glicosídeos (SANTOS *et al.*, 2021).

Quanto ao teor alcoólico, as cervejas não apresentaram diferenças significativa, estando ambas com teor alcóolico próximo a 4%, no entanto, a concentração de etanol na cerveja LAB foi de 32,75g L⁻¹, maior que na cerveja LAN (30,15g L⁻¹). Assim como ocorreu no estudo, é comum encontrar na literatura informações que as leveduras *S. cerevisiae* produzem maior quantidade de etanol comparativamente a outros gêneros, independentemente do teor de açúcares disponíveis, micronutrientes e oxigênio (CANONICO *et al.*, 2019). Da mesma forma, a produção de glicerol na cerveja LAB (4,30 g L⁻¹) foi maior do que em LAN (2,51 g L⁻¹). Destaca-se que a formação do glicerol em cervejas ácidas é interessante para equilibrar a acidez do produto. O glicerol é um tipo de álcool que promove aumento na intensidade da percepção de gosto doce e de corpo em bebidas alcóolicas, mascarando a acidez acentuada, e possibilitando melhorias na aceitabilidade desse tipo de cerveja (ZHAO ; BECKER, 2015).

Conforme os dados da Tabela 1, a coloração das duas cervejas LAB e LAN não diferiram em nenhum dos parâmetros de cor avaliados pelos sistemas CIELab e CIEL*a*b*. De forma geral, a tonalidade das cervejas tem relação com uso do malte e adjuntos, incluindo frutas, e cervejas mais claras tendem a ter um valor de luminosidade (*L) maior, assim como para a tonalidade amarela (+ *b), ao contrário de a*, que se aproxima de valores negativos,

representando maior tonalidade verde na bebida (KOREN *et al.*, 2020). Através dos resultados encontrados, observa-se que as cervejas produzidas são mais claras, e a adição de 10% de polpa de maracujá da caatinga não influenciou na coloração do produto. O método aplicado para análise de cor das cervejas por espectrofotometria, mostrou que LAN e LAB diferiram significativamente em relação a intensidade de cor pelo protocolo SRM, destacando a cerveja LAN (7,27). De toda a forma, ambas as cervejas apresentaram coloração amarela predominante, com valores para o ângulo de tonalidade h bem próximos a 90° , sendo h igual a 89,74 para LAN e 89,95 para LAB.

Tabela 1 - Características físico-químicas, perfil de álcoois, ácidos orgânicos e açúcares do mosto de cerveja após o processo de brassagem, da polpa de maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast), e das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour com adição de maracujá da caatinga a partir das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (LAB) e *Lachancea thermotolerans* (LAN).

Variáveis ^{1,2,3}	Mosto de cerveja	Polpa de maracujá da caatinga ⁶	Cervejas Catharina Sour de maracujá da caatinga	
			LAB	LAN
SST (°Brix) ⁴	10,4±0,13	11,4±0,0	6,17±0,05 ^a	5,93±0,01 ^b
pH	5,66±0,04	3,31±0,0	3,51±0,00 ^a	3,53±0,00 ^a
Acidez Total (g L ⁻¹) ⁵	0,12±0,01	3,77±0,01	0,94±0,01 ^a	0,79±0,01 ^b
Acidez Volátil (g L ⁻¹)	NA	NA	0,71±0,42 ^a	0,20±0,05 ^a
Álcool (%v/v)	NA	NA	3,9±0,1 ^a	3,8±0,0 ^a
Cor (SRM)	NA	NA	5,26±0,85 ^b	7,27±0,08 ^a
L*	NA	NA	41,67±1,62 ^a	43,59±1,46 ^a
a*	NA	NA	0,09±0,16 ^a	0,17±0,01 ^a
b*	NA	NA	21,08±0,99 ^a	20,64±1,10 ^a
C*	NA	NA	21,08±0,99 ^a	20,65±1,10 ^a
h	NA	NA	89,95±0,73 ^a	89,74 ±0,59 ^a
Açúcares (g L⁻¹)				
Maltose	55,37±1,36	1,29±0,00	1,75a±0,01 ^a	0,51b ±0,11 ^b
Glucose	9,78±0,48	20,95±2,21	ND	ND
Frutose	2,58±0,16	23,44±2,50	1,17±0,01 ^a	0,51±0,0 ^b
Rhamnose	ND	ND	ND	0,18±0,01
Açúcares (Σ)	67,73	56,68	2,92	1,20
Álcoois (g L⁻¹)				
Etanol	ND	ND	32,75±0,21 ^a	30,63±0,37 ^b

Glicerol	ND	ND	4,65±0,12 ^a	3,47±0,68 ^b
Álcoois (Σ)	-	-	37,05	32,66
Ácidos Orgânicos (g L⁻¹)				
Cítrico	0,16±0,00	27,45±2,28	4,12±0,03 ^a	4,33±0,04 ^a
Propiônico	2,47±0,01	0,89±0,11	2,12±0,07 ^a	1,29±0,05 ^a
Málico	0,39±0,02	8,30±0,91	1,25±0,03 ^a	1,24±0,04 ^a
Succínico	ND	3,44±0,38	0,58±0,28	ND
Lático	0,21±0,01	0,23±0,02	4,71±0,25 ^a	2,58±0,17 ^b
Fórmico	0,45±0,00	0,15±0,01	0,33±0,01 ^a	0,36±0,01 ^a
Acético	1,10±0,02	0,70±0,18	0,87±0,06 ^a	0,97±0,02 ^a
Ácidos orgânicos (Σ)	4,78	41,16	13,98	10,77

Valores médios com $\pm$ desvio padrão. ¹ Letras diferentes na mesma linha indicam variação significativa ($p < 0,05$) entre as cervejas produzidas pelos dois métodos testados para o parâmetro avaliado. ² NA = não avaliado. ³ ND = não detectado. ⁴ SST = Sólidos solúveis. ⁵ Acidez total expressa em ácido lático para o mosto de cerveja e cervejas, e em ácido cítrico para a polpa de maracujá da caatinga. ⁶ Polpa de maracujá da caatinga analisada após os tratamentos térmicos de pasteurização e despectinização.

Além de se destacar nos teores totais dos açúcares e álcoois quantificados por HPLC-RID, a cerveja LAB apresentou uma concentração maior de ácidos orgânicos totais, diferindo significativamente de LAN em relação ao conteúdo de ácido lático, sendo o teor desse de 4,71 g L⁻¹ em LAB e 2,58 g L⁻¹ em LAN. Assim, o uso das bactérias *Lactobacillus buchneri* foi mais eficiente para a fermentação láctica da cerveja do que o emprego das leveduras do gênero *Lachancea thermotolerans*. O ácido lático é o principal ácido orgânico nas cervejas ácidas e elaboradas no estilo Catharina Sour (DYSVIK *et al.*, 2020; STRONG; ENGLAND, 2021). CANONICO *et al.*, (2019), também utilizou *Lachancea thermotolerans*, resultando em cerveja ácidas com menor teor de ácido lático do que LAN (1,83 g L⁻¹), além de maior acidez volátil (0,38g L⁻¹). Adicionalmente, ressalta-se que foi produzido pouco ácido acético na cerveja originária dos tratamentos LAB e LAN (<1 g L⁻¹). O ácido acético dependendo de sua concentração pode resultar em *off-flavor* na cerveja, originando notas de aroma/sabor descritas como “solvente” e “avinagrado” (DYSVIK *et al.*, 2020).

O ácido cítrico é o principal ácido orgânico encontrado no maracujá da caatinga, seguido pelo ácido málico (SANTOS *et al.*, 2021). Assim, ainda que o mosto inicial de cerveja apresentasse baixas concentrações desses dois ácidos (0,16g L⁻¹ e 0,39g L⁻¹, respectivamente), os conteúdos desses compostos aumentaram nas cervejas produzidas, em decorrência da adição da polpa de fruta. A cerveja LAB apresentou 4,12g L⁻¹ de ácido cítrico e 1,25 g L⁻¹ de ácido málico, enquanto a cerveja LAN apresentou 4,33g L⁻¹ e 1,24g L⁻¹ respectivamente, e ambas não diferiram significativamente. O ácido propiônico, que é um ácido que é encontrado no lúpulo,

também foi quantificado nas cervejas, sendo identificado na concentração de $2,12 \text{ g L}^{-1}$ em LAB e $1,29 \text{ g L}^{-1}$ em LAN. Cervejas com maior amargor (IBU) tendem a ter uma concentração maior do ácido (SEO *et al.*, 2020). O ácido fórmico encontrado em baixa concentração no mosto inicial de cerveja ($0,45 \text{ g L}^{-1}$) e na polpa de maracujá da caatinga ($0,15 \text{ g L}^{-1}$), foi encontrado em concentrações ainda menores nas duas cervejas, LAB com ($0,33 \text{ g L}^{-1}$) e LAN ($0,36 \text{ g L}^{-1}$). De fato, a literatura cita que este ácido tende a ser eliminado lentamente durante o processo de fermentação (LI; LIU, 2018). Finalmente, o ácido succínico, encontrado somente na cerveja LAB ($0,58 \text{ g L}^{-1}$), é produzido geralmente durante a fermentação alcoólica (LI; LIU, 2018), e pode contribuir para uma cerveja mais “harmoniosa” e “delicada” (XU *et al.*, 2018).

Quinze compostos fenólicos foram quantificados por RP-HPLC/DAD (Tabela 2), pertencentes às classes dos flavonóides (flavanóis e flavonóis), ácidos fenólicos e estilbenos. Nas cervejas os compostos fenólicos majoritários foram a miricetina, ácido gálico, (+)-catequina e procinidina A2, nessa ordem de importância. Os demais compostos fenólicos foram encontrados nas cervejas em quantidade inferiores a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. A cerveja LAB se destacou no conteúdo de (+)-catequina e procianidina A2 e no total de flavanóis. Já LAN apresentou concentração significativamente maior de ácido gálico e maior conteúdo de ácidos fenólicos totais. Por sua vez, o teor de miricetina não diferiu significativamente entre LAB e LAN, sendo ao redor de $15\text{-}16 \text{ mg L}^{-1}$. A mirecitina é um composto bioativo que auxilia no combate de inflamações, patologias cardiovasculares e cânceres (DEVI *et al.*, 2015).

Tabela 2 - Perfil de compostos fenólicos do mosto de cerveja após o processo de brassagem, da polpa de maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast), e das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour com maracujá da caatinga a partir das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (LAB) e *Lachancea thermotolerans* (LAN).

Composto Fenólicos (mg L ⁻¹) ^{1,2}	Mosto de cerveja	Polpa de maracujá da Caatinga ³	Cervejas estilo Catharina Sour com maracujá da caatinga	
			LAB	LAN
Ácidos Fenólicos				
Ácido <i>trans</i> -caftárico	ND	7,73±0,02	0,60±0,01 ^a	0,56±0,02 ^a
Ácido gálico	6,11±0,01	4,89±0,21	5,72 ±0,07 ^b	6,90±0,10 ^a
Ácido clorogênico	0,35±0,06	ND	0,73±0,01 ^a	0,57±0,03 ^b
<i>Ácidos Fenólicos (Σ)</i>	6,46	12,62	7,05	8,03
Estilibenos				
<i>trans</i> -resveratrol	ND	1,16±0,55	0,15±0,01 ^a	0,13±0,01 ^a
<i>cis</i> -revesratrol	ND	11,23±0,5	ND	ND
<i>Estilbenos (Σ)</i>		12,39	0,15	0,13

Flavonols

Hesperidina	ND	14,57±0,04	0,63±0,03 ^a	0,58±0,07 ^a
Quercetina-3-β-D glucosídeo	0,16±0,01	8,94±0,07	0,73±0,03 ^a	0,63±0,03 ^a
Miricetina	ND	225,51±1,99	16,23±0,32 ^a	15,31±0,69 ^a
Kaempferol-3-O-glucosídeo	0,04±0,0	0,21±0,01	0,70±0,06 ^a	0,02±0,00 ^b
Flavonóis (Σ)	0,20	249,23	18,29	16,54

Flavanols

(-) -galato epicatequina	0,21 ±0,00c	ND	0,19±0,00 ^a	0,18±0,00 ^a
(-) - galato Epigallocatequina	0,91±0,01	0,62±0,0	0,12±0,00 ^a	0,07 ±0,00 ^b
(+) -catequina	0,91 ±0,05	5,52±0,04	3,20 ±0,03 ^a	1,76±0,05 ^b
(-) -epicatequina	0,23 ±0,02	ND	ND	ND
Procianidina A2	ND	0,89±0,07	5,92 ±0,12 ^a	0,71±0,03 ^b
Procianidina B1	ND	0,79±0,01	0,10±0,00 ^a	0,07±0,04 ^a
Flavanóis (Σ)	2,26	7,82	9,53	2,79
Fenólicos Totais (Σ)	8,92	282,27	35,02	27,49

Valores médios com ± desvio padrão. ¹Letras diferentes na mesma linha indicam variação significativa ($p < 0,05$) entre as cervejas produzidas pelos dois métodos testados. ²ND = não detectado. ³Polpa de maracujá da caatinga analisada após os tratamentos térmicos de pasteurização e despectinização.

A cerveja LAB apresentou maior conteúdo total dos compostos fenólicos quantificados por RP-HPLC/DAD (35,02 mg L⁻¹), apresentando concentração 21% superior em relação a cerveja LAN (27,49mg L⁻¹). Os compostos fenólicos presentes nas cervejas são derivados dos maltes de cevada e trigo, ou podem vir da adição de frutas (BYEON *et al.*, 2022; NARDINI; GARUSO, 2020; YANG; GAO, 2021). A análise da polpa de maracujá (Tabela 2), mostra que dentre os compostos quantificados, não foram encontrados apenas o ácido clorogênico, e os flavanóis (-)-galato epicatequina e (-)-epicatequina, destacando a miricetina como o composto fenólico majoritário do fruto (222,51 mg L⁻¹), seguido da hesperidina (14,57 mg L⁻¹) e *cis*-resveratrol (11,23 mg L⁻¹). A miricetina e a hesperidina não foram encontrados no mosto de cerveja inicial, mas foram quantificados nas cervejas LAB e LAN, sendo, portanto, possivelmente resultantes da adição da fruta na cerveja Catharina Sour. Outros compostos fenólicos que não foram detectados no mosto de cerveja, mas foram encontrados na polpa de maracujá da caatinga e nas cervejas, são: ácido *trans*-caftárico, *trans*-resveratrol e as procianidinas A2 e B1. Na cerveja LAB, possivelmente a levedura *S. cerevisiae* também produziu proacidina A2, uma vez que foi encontrada nesta cerveja quantidade bem superior do composto (5,92 mg L⁻¹) comparativamente a identificada na polpa do maracujá (0,89mg L⁻¹) e na cerveja LAN (0,71mg L⁻¹).

No trabalho de NARDINI e FODDAI (2020), que avaliaram cervejas enriquecidas com nozes, castanhas, cacau, mel, chá verde, café e alcaçuz, os principais compostos fenólicos agregados a cerveja foram a (+)-catequina, (-)-epicatequina, rutina, miricetina, quercetina e o *trans*-resveratrol. Compostos fenólicos influenciam nas características sensoriais da cerveja (sabor e aroma), na estabilidade coloidal (turbidez e formação de espuma) e no tempo de vida de prateleira (HUMIA *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2013). Além disso, a presença de compostos fenólicos está ligada a benefícios à saúde humana. O consumo moderado de cerveja rica em compostos fenólicos pode auxiliar na redução de doenças cardiovasculares, semelhantemente a ingestão de vinho (GAETANO *et al.*, 2016).

4.3 Aceitabilidade das cervejas e intensidade da acidez e do sabor de maracujá-da-caatinga

O resultado do teste de consumidor mostrou que a aceitação das cervejas LAB e LAN não diferiu significativamente em relação a aparência, aroma, sabor e impressão global (Figura 3A). As médias de aceitação da aparência, aroma e impressão global das cervejas estão próximas a sete na escala hedônica utilizada, que corresponde a “gostei moderadamente”. Enquanto a média de aceitação do sabor das cervejas ficou próxima a seis, correspondente a categoria “gostei ligeiramente”. Adicionalmente, destaca-se que 74% dos consumidores avaliaram a aceitação global das cervejas LAB e 73% da e LAN (Figura. 3B) com notas de aceitabilidade, iguais ou superiores a seis, e apenas 26% e 27% deram notas de rejeição para as amostras, inferiores a quatro (“desgostei ligeiramente”). Assim, considera-se que as leveduras testadas *Americam Ale S. cerevisiae* e *Lachancea thermotoleran* não influenciaram na aceitabilidade da cerveja produzida no estilo Catharina Sour com maracujá da caatinga e que este produto tem potencial de mercado, uma vez que foi bem aceito por consumidores de cerveja artesanal.

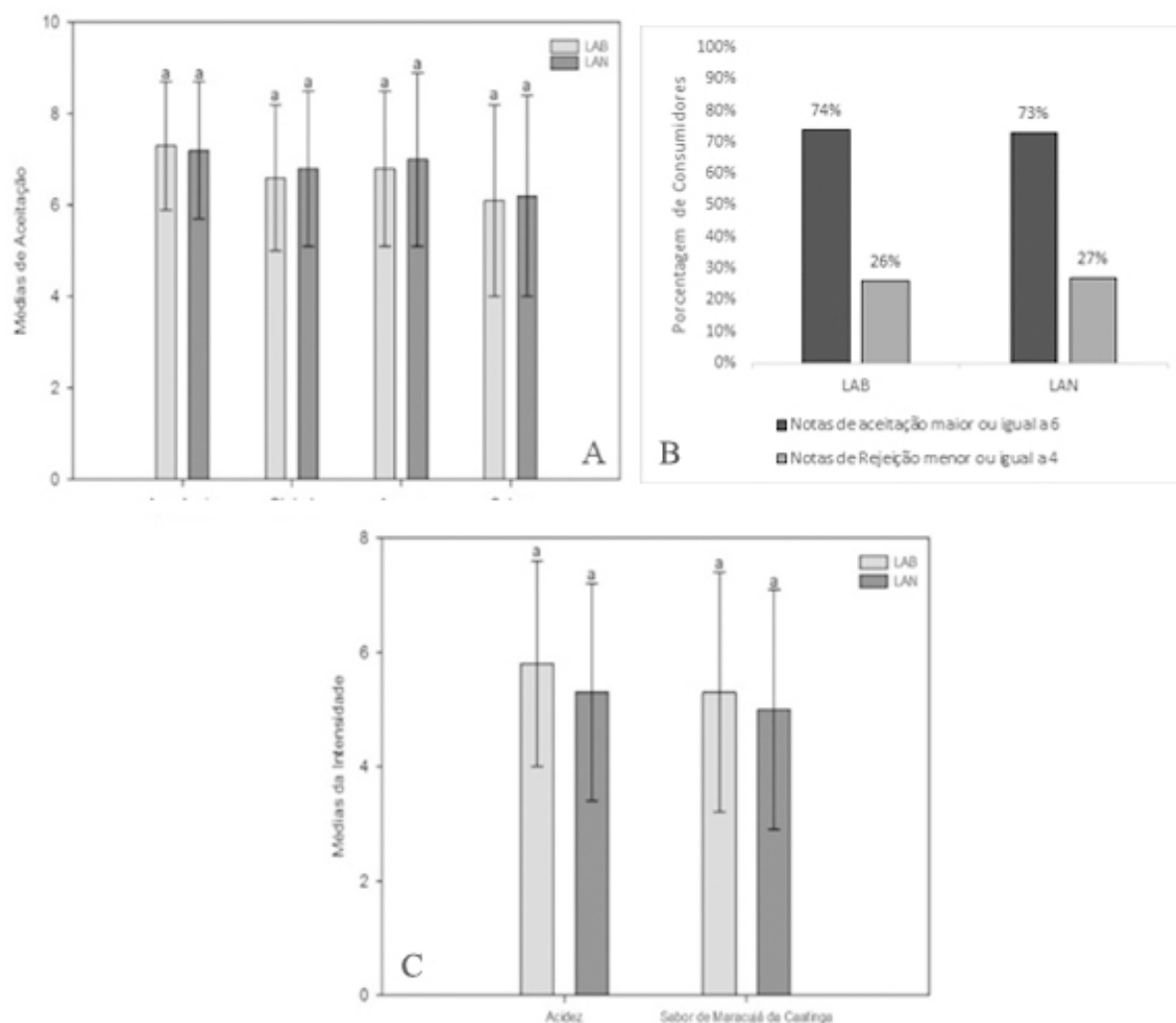


Figura 3 - Gráficos mostrando o resultado da avaliação sensorial pelos consumidores das cervejas elaboradas no estilo Catharina Sour com maracujá da caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast) a partir das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* (LAB) e *Lachancea thermotolerans* (LAN), são eles: (A) avaliação da aceitação da aparência, aroma, sabor e da impressão global das cervejas utilizando a escala hedônica híbrida de nove pontos (1= “desgostei extremamente; 9 = “gostei extremamente”); (B) intensidade dos atributos acidez e sabor de maracujá da caatinga, avaliados utilizando escala não estruturada de 9cm.

As cervejas LAN e LAB também não apresentaram diferenças significativas em relação a intensidade dos atributos acidez e sabor de maracujá da caatinga (Fig. 3 C) de acordo com a percepção dos consumidores, sendo ambos avaliados com média acima de 5,0 (> “moderado”). Entretanto, as médias de intensidade de LAN para estes atributos foram inferiores. De fato, a cerveja LAB apresentou maior conteúdo total de ácidos orgânicos e valor de acidez total, fator que deve ter influenciado em leve aumento da percepção de acidez na bebida. Por outro lado, a cerveja LAB também apresentou maiores concentrações de maltose, frutose e glicerol, além de

sólidos solúveis (em °Brix), que podem ter promovido um leve aumento na intensidade de sabor de maracujá da caatinga nesta amostra, devido a maior volatilização no *headspace* dos compostos voláteis que contribuem para a percepção do atributo e aumento do gosto doce.

5. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que o método tradicional *kettle sour*, utilizando bactérias *Lactobacillus buchneri* e leveduras American Ale *Saccharomyces cerevisiae*, é mais efetivo para a produção de cerveja no estilo Catharina Sour, devido ao melhor rendimento do processo fermentativo, e maior produção de etanol, glicerol, ácido láctico, açúcares e compostos fenólicos, em menor intervalo de tempo. Entretanto, destaca-se o potencial da levedura do gênero *Lachancea thermotolerans* para a produção de cervejas ácidas, promovendo a elaboração de cervejas de boa aceitação pelos consumidores de cervejas artesanais de modo geral, a adição de polpa de maracujá da caatinga enriqueceu a cerveja Catharina Sour em termos de compostos fenólicos, proporcionando à bebida teores de miricetina, hesperidina, ácido *trans*-caftárico, *trans*-resveratrol e da procianidina A2 e B1e (+)-catequina. A adição de frutas no processo de elaboração da cerveja, a exemplo do maracujá da caatinga, além de promover o fortalecimento da agricultura familiar no Bioma Caatinga, proporciona inovação ao mercado, e pode melhorar o aspecto nutracêutico da cerveja, tornando o consumo moderado da bebida benéfico para a saúde dos consumidores. Os resultados dessa pesquisa são de grande interesse para a indústria cervejeira, sendo úteis na produção de cervejas artesanais no estilo Catharina Sour e para outros tipos de cervejas ácidas. Em cervejas Sours não existe parâmetros de avaliação em relação a acidez, algo que possa ser discutido nos guias de estilo. Fica aberto em relação estudos futuros sobre a eficácia do reaproveitamento das leveduras *Lachancea thermotolerans* na produção de cerveja sours.

AGREDECIMENTOS

A Universidade Federal da Bahia (UFBA), a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), ao Instituto Federal de Educação de Pernambuco (IFSertão) campus Petrolina, a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado (número do processo-88887,610860/2021-00), e a empresa Levteck Tecnologia Viva Florianópolis/SC pela doação de leveduras.

REFERÊNCIAS

ANDRIETTA S. R.; ANDRIETTA M. G. S. Microbiologia Básica. Material para o treinamento de analista em microbiologia realizado no Laboratório de Processos e Biotecnologia – CPQBA – Unicamp, 2000.

ALFEO, V.; DE FRANCESCO, G.; SILEONI, V.; BLANFORTIC, S.; PALMERI, R.; AERTS, G.; PERRETIA, G.; TODARO, A. Physicochemical properties, sugar profile, and non-starch polysaccharides characterization of old wheat malt landraces. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 102, p. 103997, 2021.

ARAUJO, F. P.; MELO, N.F.D.; ALDAIR, S.D.T.; YURI, J. E.; FALEIRO, F. G. **Cultivo de Passiflora cincinnata Mast. cv. BRS Sertão Forte**. Petrolina: Embrapa Semiárido. 11 p. Circular técnica, 119). 2019.

BALL, S.; BULLOCK, S.; LLYOD, L.; MAPP, K. Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography. **Agilent Hi-Plex Columns Applications Compendium Agilent Technologies Inc, Santa Clara, CA**, 2011.

BJCP. **Beer Judge Certification Program/Guia de Estilos 2021**. BJCP, Inc. 2022. Disponível em: <https://www.bjcp.org/bjcp-style-guidelines/>.

BRASIL. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. ANUÁRIO DA CERVEJA 2020, Brasília, MAPA. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/wp-

BYEON, Y. S.; HONG, Y. S.; KWAK, H. S.; LIM, S. T.; KIM, S. S. Metabolite profile and antioxidant potential of wheat (*Triticum aestivum* L.) during malting. **Food Chemistry**, v. 384, p. 132443, 2022.

CANONICO, L.; GALLI, E.; CIANI, E.; COMITINI, F.; CIANI, M. Exploitation of three non-conventional yeast species in the brewing process. **Microorganisms**, v. 7, n. 1, p. 11, 2019.

COELHO, M. E.; PADILHA, C. V. D. S.; MISKINIS, G. A.; DE SÁ, A. G. B. ; PEREIRA, G. E.; AZEVEDO, L. C. D. ; LIMA, M. S. Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC : Method validation and characterization of products from northeast Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 160-167, 2018.

DACK, R, E.; BLACK, G, W.; KOUTSIDIS, G.; USHER, ST, J. The effect of Maillard reaction products and yeast strain on the synthesis of key higher alcohols and esters in beer fermentations. **Food chemistry**, v. 232, p. 595-601, 2017.

DADIC, M.; BELLEAU, G. Beer hazes. I. Isolation and preliminary analysis of phenolic and carbohydrate components. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 38, n. 4, p. 154-158, 1980.

DEVI, K, P.; RAJAVEL, T.; HABTEMARIAM, S.; NABAVI, S, F.; NABAVI, S, M. Molecular mechanisms underlying anticancer effects of myricetin. **Life sciences**, v. 142, p. 19-25, 2015. DOMIZIO, P, *et al*, *Lachancea thermotolerans* as an alternative yeast for the production of beer, **Journal of the Institute of Brewing**, v, 122, n, 4, p, 599-604, 2016.

DUTRA, M, D, C, P.; RODRIGUES, L, L.; OLIVEIRA, D, D. ; PEREIRA, E, P.; LIMA, M, S. Integrated analyses of phenolic compounds and minerals of Brazilian organic and conventional grape juices and wines: Validation of a method for determination of Cu, Fe and Mn. **Food Chemistry**, v. 269, p. 157-165, 2018.

DYSVIK, A.; LA ROSA, S, L.; HOVDE, K. ; MYHRER, K, S.; ØSTILIE, H, M. ; ROUCK, G, D.; RUKKE, EO. ; WESTERENG, B.; WICKLUND, T. Co-fermentation involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* species tolerant to brewing-related stress factors for controlled and rapid production of sour beer. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 279, 2020.

DYSVIK, A.; LA ROSA, S, L.; ROUCK, G, D.; RUKKE, EO.; WESTERENG, B.; WICKLUND, T. Microbial dynamics in traditional and modern sour beer production. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 14, p. e00566-20, 2020.

DYSVIK, A.; HOVDE, K.; MYHRER, K, S.; WESTERENG, B.; RUKKE, EO.; ROUCK, G, D.; WICKLUND. Co-fermentation involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* species tolerant to brewing-related stress factors for controlled and rapid production of sour beer. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 279, 2020.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EBC). Analytica-EBC. Seção 9, Beer Method, 9.6, Fachverlag Hans Carl: Nuremberg, Alemanha. 2010.

ESCOLA SUPERIOR DE CERVEJA E MALTE (ESCM). Catharina Sour: O Primeiro Estilo de Cerveja Brasileiro, **ESCM**, Blumenau/SC, 28 Set, 2021. Disponível em: <https://cervejaemalte.com.br/blog/catharina-sour-o-primeiro-estilo-de-cerveja-brasileiro/>

FELL, J, W.; STATZELL-TALLMAN, A. ; KURTZMAN, C, P. *Lachancea meyersii* sp. nov., an ascosporeogenous yeast from mangrove regions in the Bahama Islands. **Stud Mycol**, v. 50, p. 359-363, 2004.

GAETANO, G, D.; COSTANZO, S.; CASTELNUOVO, A, D.; BADIMON, L.; BEJKO, D.; ALERWI, A.; CHIVA-BLANCH, G.; ESTRUCH, R.; VECCHIA, C, L.; PANICO, S.; POUNIS.; SOFI, F.; STRANGES, S.; TREVISAN.; URSINI, F.; CERLETTI.; DONATI, M, B.; IACOVIELLO, L. Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, n. 6, p. 443-467, 2016.

HUMIA, B, V.; SANTOS, K, S.; BARBOSA, M, A.; SAWATA, M.; MENDONÇA.; PADADILHA.; Beer molecules and its sensory and biological properties: A review. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1568, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

LI, H. ; LIU, F. Changes in organic acids during beer fermentation. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 73, n. 3, p. 275-279, 2015.

KURTZMAN, C, P.; ROBNETT, C, J. Phylogenetic relationships among yeasts of the ‘*Saccharomyces* complex’ determined from multigene sequence analyses. **FEMS yeast research**, v. 3, n. 4, p. 417-432, 2003.

NARDINI, M. ; FODDAI, M, S. Phenolics profile and antioxidant activity of special beers. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2466, 2020.

NARDINI, M. ; GARAGUSO, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. *Food chemistry*, v. 305, p. 125437, 2020. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers, **Food chemistry**, v, 305, p, 125437, 2020.

OSBURN, K.; AMARAL, J.; METCAL, S, R.; NICKENS, D, M.; ROGERS, C, M.; SAUSEN, C.; CAPUTO, R.; MILLER, J.; LI, H.; TENESSEN, J, M.; BOCHMAN, M, L. Primary souring:

a novel bacteria-free method for sour beer production, **Food microbiology**, v, 70, p, 76-84, 2018.

PADILHA, C, V, D, S. ; MISKINIS, G, A. ; SOUZA, M, E, A, O, D ,S.; PEREIRA, G, E, OLIVEIRA, D, D. ; BORDIGNON-LUIZ, M, T. ; LIMA, M, S. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food chemistry**, v. 228, p. 106-115, 2017.

RUSSELL, C.; BHANDARI, R. R.; WALKER, T. K. Vitamin requirements of thirty-four lactic acid bacteria associated with brewery products. **Microbiology**, v. 10, n. 3, p. 371-376, 1954.

SANTOS, T, B.; ARAUJO, P, D. ; NETO, A, F.; FREITAS, S, T, D. ; VILAR, S, B, D, O.; ARAUJO, A, J, B.; LIMA, M, S. Phytochemical compounds and antioxidant activity of the pulp of two brazilian passion fruit species: *Passiflora cincinnata* Mast. and *Passiflora edulis* Sims. **International Journal of Fruit Science**, v. 21, n. 1, p. 255-269, 2021.

SEO, SEUNG-HO.; KIM, E, J.; PARK, S, E.; PARK, D, H.; PARK, K , M. ; NA, C, S.; SON, H, S. GC/MS-based metabolomics study to investigate differential metabolites between ale and lager beers. **Food Bioscience**, v. 36, p. 100671, 2020.

SILVA, C, H, P, D, M. . **Microbiologia da Cerveja**. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2019.

VIANA, A, C.; PIMENEL, T, C.; DO VALE, R, B.; CLEMENTINO, L, S.; JANURIO, E, T. ; MAGNANI, M.; LIMA, M, D, S. American pale Ale craft beer: Influence of brewer's yeast strains on the chemical composition and antioxidant capacity. **LWT**, v. 152, p. 112317, 2021.

VILLANUEVA, N, D, M.; DA SILVA, MARIA A, A, P. Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps, **Food Quality and Preference**, v, 20, n, 1, p, 1-12, 2009.

XU, K.; GUO, M.; DU, J.; ZHANG, Z. Cloudy wheat beer enriched with okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]: Effects on volatile compound and sensorial attributes. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 289-300, 2018.

YANG, D. ; GAO, X, Research progress on the antioxidant biological activity of beer and strategy for applications. **Trends in Food Science & Technology**, v, 110, p, 754-764, 2021.

ZHAO, H. ; LI, G. ; SUN, G ; YANG, B. ; ZHAO, M. . Assessment of endogenous antioxidative compounds and antioxidant activities of lager beers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 4, p. 910-917, 2013.

ZHAO, X. ; PROCOPIO, S. ; BECKER, T. Flavor impacts of glycerol in the processing of yeast fermented beverages: a review. **Journal of food science and technology**, v. 52, p. 7588-7598, 2015.

APÊNDICE – Ficha de avaliação sensorial das cervejas

Nome: _____ Idade: _____ Data: ____/____/____

Amostra: 941

1- Você está recebendo uma amostra codificada de “Estilo Catharina Sour” COM ADIÇÃO DE MARACUJÁ DA CAATINGA. Por favor, observe a bebida. Em seguida, avalie o quanto você gostou ou desgostou da **APARÊNCIA** da amostra e atribua uma nota para ela, marcando com um traço na escala abaixo a posição que melhor indica sua

