

## Artigo

## Conceitos Químicos Envolvidos na Produção da Cerveja: Uma Revisão

Coelho Neto, D. M.; Ferreira, L. L. P.; Sad, C. M. S.; Castro, E. V. R.; Borges, W. S.; Filgueiras, P. R.; Lacerda Jr, V.\*

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (1), 120-147. Data de publicação na Web: 10 de fevereiro de 2020

<http://rvq.sbq.org.br>

### Chemical Concepts Involved in Beer Production: A Review

**Abstract:** Beer is one of the oldest alcoholic beverages consumed by humanity, having been discovered about 7.000 years ago. When consumed in moderate quantities, beer can bring similar health benefits to wine. Despite the great economic, cultural and scientific importance of beer, there are few reports in Portuguese literature focused on the topic. In this sense, the main objective of this paper is to gather information in the scientific literature about the chemical aspects involved in brewing, as well as the analytical techniques used in their characterization, authentication and control of the productive processes, and the biological activities that compounds of beer own. Beer is produced basically by four essential ingredients: water, malt, hops and yeast. These ingredients are handled in seven steps: milling, mashing, boiling, fermenting, conditioning, filtering, and packaging. At the final stage of production, manufactures can evaluate physicochemical properties of the beer, of which it is highlighted alcohol content, bitterness, color, and pH. In the identification of beer compounds, as well as in the authentication and control of production processes, can be used analytical techniques such as infrared (IR) spectroscopy, hydrogen nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$  NMR), mass spectrometry (MS) and gas Chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). In addition, studies on the biological activities of compounds present in the beer reveal an antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, antitumor potential, among others, noting that moderate consumption of the beverage can bring benefits to the health of consumers.


**Keywords:** Beer; production; chemical processes; analytical techniques; biological activity.

### Resumo

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais antigas consumidas pela humanidade, tendo sido descoberta há cerca de 7.000 anos. Quando consumida em quantidades moderadas, a cerveja pode trazer benefícios a saúde semelhantes aos do vinho. Apesar da grande importância econômica, cultural e científica que a cerveja possui, percebe-se a escassez de uma literatura em português voltada ao tema. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo reunir informações presentes na literatura científica, apresentando os aspectos químicos envolvidos na produção cervejeira, as técnicas analíticas empregadas na sua caracterização, autenticação e controle dos processos produtivos, assim como as atividades biológicas que a cerveja possui. Durante a produção da bebida são utilizados quatro ingredientes essenciais: água, malte, lúpulo e levedura. Esses ingredientes são manipulados em sete etapas: moagem, mostura, fervura, fermentação, maturação, filtração e envase. Ao final de sua produção a bebida pode ser avaliada quanto as suas propriedades físico-químicas, das quais destacamos: pH, amargor, cor e teor alcoólico. Na identificação dos compostos presentes na cerveja, bem como na autenticação e controle dos processos produtivos, podem ser empregadas técnicas analíticas, tais como a espectroscopia na região do infravermelho (IV), a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ), a espectrometria de massas (EM) e a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM). Além disso, estudos sobre as atividades biológicas de compostos presentes na cerveja revelam um potencial antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiano, antitumoral, entre outros, ressaltando que o consumo moderado da bebida pode trazer benefícios na saúde dos consumidores.

**Palavras-chave:** Cerveja; produção; processos químicos; técnicas analíticas; atividades biológicas.

\* Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Química, Av. Fernando Ferrari 514, CEP: 29075-910, Goiabeiras, Vitória-ES, Brasil.

 [vljuniorqui@gmail.com](mailto:vljuniorqui@gmail.com)

DOI: [10.21577/1984-6835.20200011](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200011)

## Conceitos Químicos Envolvidos na Produção da Cerveja: Uma Revisão

**Dorval M. Coelho Neto, Laysa L. P. Ferreira, Cristina M. S. Sad, Warley S. Borges, Eustáquio V. R. Castro, Paulo R. Filgueiras, Valdemar Lacerda Jr\***

Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Química, Av. Fernando Ferrari 514, Goiabeiras, Vitória-ES, Brasil.

\*[vljuniorqui@gmail.com](mailto:vljuniorqui@gmail.com)

*Recebido em 15 de julho de 2019. Aceito para publicação em 16 de janeiro de 2020*

1. Introdução
2. Ingredientes Utilizados na Produção da Cerveja
3. Processos Químicos Envolvidos nas Etapas de Produção da Cerveja
4. Caracterização da Cerveja
6. Aplicação de Técnicas Analíticas Voltadas a Análise de Cervejas
5. Atividades Biológicas de Compostos Presentes na Cerveja
7. Conclusão

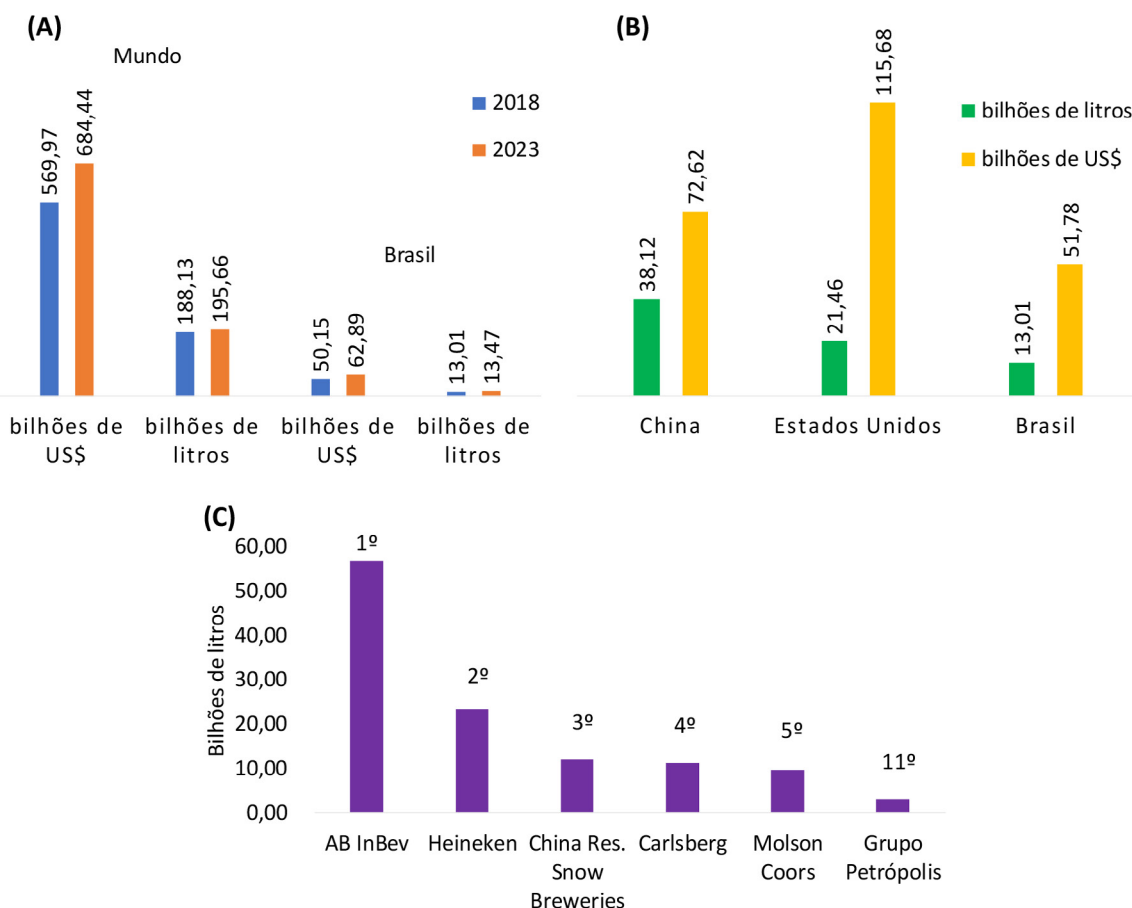
### 1. Introdução

A cerveja é uma bebida fermentada de cereais produzida a partir de quatro ingredientes básicos: a água, malte, lúpulo, levedura e, em alguns casos, adjuntos cervejeiros.<sup>1</sup> A bebida está presente na história da humanidade desde o início da urbanização no período Neolítico (7.000 a.C),<sup>2</sup> tendo grande importância política, econômica, religiosa, social, cultural e gastronômica, os quais, combinados aos avanços científicos e tecnológicos, resultaram na atual composição da bebida.<sup>3,4</sup>

Atualmente a cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no Brasil e no mundo. Quando comparada às demais bebidas, ocupa a terceira colocação, estando atrás apenas do chá e da água.<sup>5-8</sup> O elevado consumo de cerveja resulta em um mercado que, em 2018, teve faturamento próximo a 570 bilhões de dólares americanos (US\$), resultado de uma produção mundial levemente superior a 188 bilhões de litros. Estima-se um aumento no consumo mundial da bebida,

cuja produção deve superar, até 2023, os 195 bilhões de litros, atingindo faturamento próximo a US\$ 684 bilhões (Figura 1).<sup>9-11</sup> O Brasil é o terceiro maior produtor mundial da bebida, atrás apenas de China e Estados Unidos. Em 2018, a produção brasileira foi pouco superior a 13 bilhões de litros, movimentando cerca de US\$ 50 bilhões (Figura 1).<sup>9-11</sup> A elevada produção de cerveja está associada a seu consumo no país, normalmente associado a momentos de lazer e socialização.<sup>12-14</sup>

A importância econômica e cultural da cerveja tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas sobre a bebida. Na literatura científica são encontrados diversos estudos referentes ao tema, em sua maioria, em língua inglesa. No escopo da química, os trabalhos são voltados ao emprego de técnicas analíticas, aplicadas a autenticação de alimentos, monitoramento de processos produtivos e caracterização da bebida. A maior quantidade de estudos publicados sobre o tema envolve o emprego da espectroscopia na região do infravermelho (IV) médio e próximo,<sup>15-23</sup> a ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H),<sup>24-32</sup> a espectrometria de massas



**Figura 1.** (A) Dados do setor cervejeiro brasileiro e mundial em 2018 com estimativas para 2023. (B) Produção *versus* faturamento, em 2018, dos três maiores países produtores de cerveja. (C) Produção, em 2018, das cinco maiores cervejarias do mundo com destaque para a única cervejaria brasileira apresentada no *ranking* mundial. Em ambos a produção é expressa em bilhões de litros de cerveja e o faturamento em bilhões de dólares (US\$)<sup>9-11</sup>

(EM)<sup>33-36</sup> e a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM).<sup>37-42</sup> Dentre elas, o IV, têm-se mostrado uma técnica versátil na análise de cervejas. No estudo de Giovenzana e colaboradores<sup>16</sup> a técnica foi empregada para determinação de pH, enquanto que Mignani e colaboradores<sup>18</sup> obtiveram sucesso com a utilização da técnica na validação de cervejas belgas. Ghasemi-Varnamkhasti e colaboradores<sup>21</sup> utilizaram o IV para monitorar o envelhecimento da bebida. Nos estudos de Almeida e colaboradores,<sup>24</sup> Rodrigues e colaboradores<sup>27</sup> e Petersen e colaboradores<sup>29</sup> notou-se a aplicação de RMN de <sup>1</sup>H tem boa aplicação na determinação da composição da bebida, em especial, na identificação de carboidratos. Entretanto, mais recentemente no trabalho de Silva e colaboradores,<sup>31</sup> foi apresentado o emprego

desta técnica na discriminação de cervejas *lager* brasileiras. A aplicação de EM tem se mostrado promissora na identificação de adulterações, conforme abordado no estudo de Pereira e colaboradores.<sup>35</sup> O uso da técnica CG-EM tem se mostrado eficaz na identificação de compostos voláteis presentes na bebida, como abordado recentemente por Guerrini e colaboradores,<sup>39</sup> Kishimoto e colaboradores<sup>40</sup> e Silva e colaboradores.<sup>43</sup> Além dessas, outras técnicas já foram empregadas na análise de cervejas, como no estudo de Ghasemi-Varnamkhasti,<sup>44</sup> onde foi desenvolvida uma língua eletrônica para monitorar o envelhecimento da bebida, e no trabalho de Yamauchi e colaboradores,<sup>45</sup> no qual foi empregada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de ultravioleta (UV) para esse mesmo fim.

Neste sentido, esta revisão tem como objetivo reunir informações da literatura científica com intuito de contribuir para a ampliação de material científico, em língua portuguesa, voltada a apresentação dos aspectos químicos envolvidos nas etapas de produção cervejeira, as propriedades biológicas que os compostos da bebida possuem, assim como as técnicas analíticas empregadas em sua análise.

## 2. Ingredientes Utilizados na Produção da Cerveja

A água é o ingrediente majoritário na bebida, por isso suas propriedades químicas podem interferir no sabor do produto final. Em geral, deseja-se da água cervejeira um pH entre 5 e 7, faixa que contribui para um bom processo enzimático do malte durante a produção da bebida. Em geral, a presença de sais na água é desejada e contribui na qualidade da cerveja, conforme exposto na Tabela 1.<sup>46-49</sup> Ressalta-se que essas informações (Tabela 1) correspondem a parâmetros gerais, os quais podem sofrer alguma variação dependendo do estilo da cerveja.<sup>50-54</sup>

O segundo ingrediente utilizado é o cereal. A cevada, *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), uma gramínea cerealífera de inverno, é a mais

empregada na indústria cervejeira e, em geral, na forma maltada. A maltagem do grão é um processo que consiste, inicialmente, no aumento da umidade do grão, cerca de 12 % para 45 %, mantendo-a de 3 a 4 dias a 16 °C. Este processo estimula a germinação do cereal, conferindo-lhe enzimas necessárias para a transformação de açúcares insolúveis em água, que estão presentes no endosperma do grão ( $\beta$ -glucanos), em açúcares solúveis e fermentáveis. Após esse período, o processo é interrompido através do aquecimento e torra dos grãos, processo que garante a remoção da umidade do grão, colaborando na sua conservação e manutenção das propriedades enzimáticas.<sup>14,56-62</sup>

A temperatura de torra do malte influencia diretamente na coloração da cerveja. Em geral, os maltes claros são torrados a 45 °C por 30 minutos, e posteriormente aquecidos a 85 °C por 24 horas, sendo comumente utilizados no preparo de cervejas claras ( $\leq 20$  EBC). O emprego de temperaturas inferiores a 100 °C garante a integridade das enzimas presentes no malte, proporcionando maior desempenho na obtenção de açúcares fermentáveis. Nos maltes mais escuros, a torra pode ocorrer a temperaturas superiores a 200 °C, sendo empregados na produção de cervejas com cores intensas. No entanto, esse processo degrada grande parte das enzimas do malte e, por esse motivo, são usados em pequenas

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

Íon	Concentração típica (mg·L <sup>-1</sup> )	Atuação do íon
Ca <sup>2+</sup>	50 a 150	Participa do metabolismo das leveduras e auxilia na clarificação e estabilização da cerveja. <sup>50-52</sup>
Mg <sup>2+</sup>	10 a 30	Contribuição similar ao cálcio e é importante nutriente para leveduras. Concentrações acima de 125 mg·L <sup>-1</sup> tem efeito laxante. <sup>50-53</sup>
HCO <sub>3</sub> <sup>1-</sup>	Até 50	Neutralização da acidez do malte, podendo elevar a basicidade do mosto. <sup>51,53-55</sup>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	50 a 150	Na forma de sulfatos de Ca <sup>2+</sup> e Mg <sup>2+</sup> contribui para acentuar o amargor. Em cervejas muito amargas a concentração pode chegar até 350 mg·L <sup>-1</sup> . Quando superior a 400 mg·L <sup>-1</sup> causa sabor adstringente e maior que 750 mg·L <sup>-1</sup> causa diarreia. <sup>50,53,55</sup>
Na <sup>1+</sup>	Até 150	Acentua o sabor adocicado do malte, acima desse valor tornará o sabor salgado. <sup>50,55</sup>
Cl <sup>-</sup>	Até 250	Acentua o sabor adocicado do malte quando combinado a Na <sup>1+</sup> . Quando derivado do processo de tratamento de água, deve ser eliminado, pois resultará em aroma “medicinal” (clorofenol) na bebida. <sup>50,55</sup>
NO <sup>3-</sup>	Até 44	Considerado um contaminante na água cervejeira. Durante a fermentação pode ser convertido a nitrito, o qual é tóxico às leveduras, interrompendo a fermentação. <sup>50-55</sup>
NO <sup>2-</sup>	Até 3	Interrompe a fermentação por ser tóxica às leveduras. Sua ingestão é considerada tóxica para maior parte dos animais. <sup>50-55</sup>

quantidades durante a produção da bebida. O malte irá influenciar diretamente no teor alcoólico, na formação de espuma e em parte do sabor e do aroma das cervejas.<sup>14,59,63,64</sup> Além da cevada, outros cereais podem ser malteados e utilizados na produção de bebidas fermentadas. Dentre eles, o arroz, o qual pode ser usado na produção de uma bebida isenta de glúten, possibilitando sua ingestão por pessoas celíacas.<sup>65-67</sup>

Na produção cervejeira podem ser utilizados adjuntos tais como frutas, legumes, especiarias e cereais destinados ao consumo humano, sendo eles uma alternativa à substituição de parte do malte de cevada ou em acréscimo a ele.<sup>55,68-70</sup> Os adjuntos cervejeiros podem ser usados com o intuito de reduzir custos, aumentar o rendimento alcoólico ou produzir diferentes sabores, cores e aromas a bebida. Trigo e aveia podem ser usados para conferir uma textura levemente viscosa à bebida, colaborando na composição do aroma e sabor, além de ajudar na formação e manutenção de espuma. O milho e o arroz, auxiliam na clareza da bebida, deixando-a mais leve e não interferindo no sabor e aroma. Frutas (em especial laranja, limão, pêssego, maçã etc.) e especiarias (canela, gengibre, anis estrelado, pimenta etc.) podem ser adicionadas à cerveja, auxiliando na cor, aroma e sabor da bebida. Enquanto que a adição de açúcares (rapadura, mel, xaropes etc.) contribuem para aumentar o rendimento alcoólico. A utilização de xaropes de maltose derivados do milho e arroz podem ser usados pelas grandes cervejarias como alternativa a padronização do produto e redução de custos.<sup>7,55,59,73-76</sup>

No entanto, a utilização desses adjuntos pode sofrer restrições em função da legislação do país em que a cerveja será produzida. Na Alemanha, perdurou de 1516 a 1987 a *Reinheitsgebot* (Lei de Pureza), a qual estabelecia que a cerveja deveria ser produzida apenas com água, malte de cevada e lúpulo. Devido a competição resultante da globalização, as produtoras alemãs de cerveja buscaram formas de reduzir seus custos de produção e também de adequar suas bebidas ao paladar de outros países, o que combinado a pressão da União Europeia, resultou na revogação da Lei de Pureza. Atualmente, a legislação alemã (Lei Provisória da Cerveja de 1993) permite a utilização de alguns adjuntos cervejeiros, tais como açúcar (cana e beterraba) e amido, mas mantém o veto ao uso de cevada não maltada.<sup>7,8</sup>

No Brasil, o Decreto Nº 6.871/2009<sup>68</sup> (e suas alterações recentes através do Decreto Nº 9.902/2019)<sup>69</sup> estabelece que na produção cervejeira parte do malte de cevada pode ser substituído por adjuntos cervejeiros de origem vegetal e animal. Além disso, a Instrução Normativa Nº 54/2001<sup>70</sup> do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento define uma diferenciação no nome da bebida em função da proporção de malte de cevada em relação aos outros ingredientes, conforme exposto no Esquema 1.

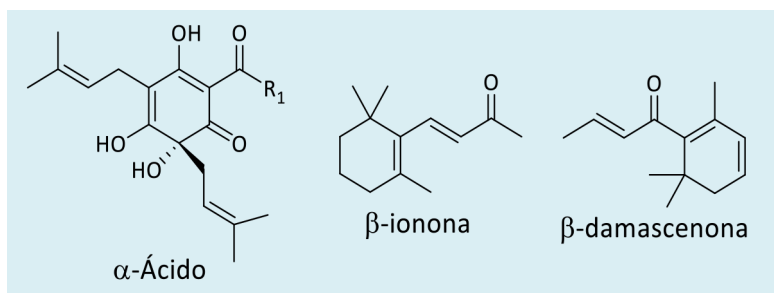
O lúpulo, *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae), outro ingrediente fundamental na produção da cerveja, é uma planta trepadeira nativa de regiões de clima temperado, existindo diversas variedades no globo terrestre.<sup>14,77,78</sup> Na inflorescência do lúpulo feminino (cones) são encontradas glândulas ricas em lupulina, uma mistura de substâncias que possui cor amarelada e constituída principalmente por polifenóis,  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos<sup>77</sup>. Essas substâncias irão influenciar diretamente no sabor, aroma, estabilização da espuma e conservação da bebida. Além disso, também possuem valor biológico, tendo ação antibacteriana, antitumoral, antioxidante e antimutagênica.<sup>77-81</sup>

Os  $\alpha$ -ácidos e  $\beta$ -ácidos, cujas estruturas mais comuns são representadas na Figura 2, são os responsáveis por conferir o amargor à cerveja, sendo que o primeiro tem maior influência nessa característica. Lúpulos que possuem concentração em massa superior a 10 % de  $\alpha$ -ácidos são denominados de "lúpulos de amargor", enquanto os que possuem quantidade inferior a "5 % desses ácidos são chamados de "lúpulos de aroma".<sup>82</sup>

A levedura, responsável pela fermentação característica da cerveja, é um tipo de fungo (*Saccharomyces cerevisiae*) que pode se reproduzir de forma assexuada e viver com ou sem a presença de oxigênio. Durante seu metabolismo, as leveduras incorporam açúcares simples, tais como a glicose e a maltose, produzindo dióxido de carbono, etanol, ésteres, fenóis, ácidos graxos e álcoois superiores. Os ésteres conferem a cerveja aromas frutados, os fenóis de especiarias (cravo, canela, dentre outros) e os ácidos graxos que remetem ao sabor de manteiga. Os álcoois superiores são os de elevada massa molecular, superior à do etanol, e podem ser associados aos sintomas da "ressaca" (propan-1-ol, 2-metilpropan-1-ol etc.). Eles também podem contribuir no aroma e sabor da bebida, como o 3-metilbutan-1-ol que é convertido em etanoato de pentila (aroma de banana).<sup>50,74,83-86</sup>

Tipos de Cerveja	x	Definição
Cerveja puro malte	→	Elaborada exclusivamente com cevada maltada.
Cerveja	→	Cerveja cujo extrato primitivo contém um mínimo de 55% em peso de cevada maltada.
Cerveja de "nome do vegetal"	→	Elaborada majoritariamente com adjuntos cervejeiros, mas com um mínimo de 20% em peso de malte de cevada no extrato primitivo. Quando dois ou mais cereais contribuírem com a mesma quantidade para o extrato primitivo, todos devem ser citados
Cerveja com "nome do vegetal"	→	Cerveja adicionada de suco e/ou extrato de origem vegetal (com a definição da concentração do suco) até o máximo de 10% em volume.
Cerveja sabor de "nome do vegetal"	→	Cerveja com óleo essencial, essência natural ou destilado do vegetal. O nome deve vir seguido do nome do vegetal.
Cerveja escura ou preta adoçada ou Malzbier	→	Cerveja escura ou preta adicionada de açúcares de origem vegetal, até um máximo de 50% em relação ao extrato primitivo, para conferir-lhe sabor doce.

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



**Figura 2.** Estrutura genérica de um  $\alpha$ -ácido (Humulona), e de dois  $\beta$ -ácidos que podem ser encontrados no lúpulo, a  $\beta$ -ionona e a  $\beta$ -damascenona<sup>14</sup>

As leveduras são normalmente divididas em dois grupos: *Ale* e *Larger*. As *Ales*, ou de alta fermentação (do inglês, *top fermented*), recebem essa denominação pois, durante a fermentação, atuam na superfície do líquido. Além disso, em geral, tem melhor desempenho entre 14 a 25 °C, temperaturas mais elevadas quando comparadas às *Largers*, resultando em cervejas com sabor frutado, devido aos ésteres formados durante a fermentação. Normalmente, a fermentação das

cervejas *Ale* dura de três a cinco dias.<sup>50,74,84,87,88</sup>

As *Largers*, ou de baixa fermentação (do inglês, *bottom fermented*) são empregadas em 90 % das cervejas comerciais produzidas no mundo.<sup>84</sup> Elas recebem essa denominação pois, normalmente, as leveduras estão situadas no fundo do recipiente onde ocorre a fermentação. Seu melhor desempenho, em geral, acontece entre 4 a 18 °C, temperaturas inferiores quando comparadas as *Ales*, propiciando a formação de



uma baixa concentração de ésteres, resultando em cervejas com sabores maltados (contribuição do malte). Normalmente, a fermentação das cervejas Lagers dura de três a cinco dias. O desempenho das leveduras está ligado a conversão de açúcares em etanol e gás carbônico com baixa produção de compostos indesejados.<sup>50,74,84,87,88</sup>

As cervejas podem ser classificadas usando diversos critérios. Uma das classificações mais aceitas no mundo é a do programa de certificação de juiz de cerveja (BJCP, do inglês *Beer Judge Certification Program*). A Tabela 2 apresenta as características gerais dos estilos mais comuns de cerveja, adaptada do BJCP.<sup>2,7,8,14</sup>

**Tabela 2.** Propriedades organolépticas e físico-químicas de estilos mais comuns de cervejas<sup>2,7,8,14,49,87</sup>

Estilo	Propriedades organolépticas	Propriedades físico-químicas
<i>English Pale Ale</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa com baixo a moderado aroma de malte, com um leve perfil de caramelo. Amargor moderado. Notas de pão, biscoito ou leve tostado. O aroma de lúpulo varia de moderado a nenhum, tipicamente com caráter floral, terroso, resinoso e/ou frutado. Cor amarelo dourada. Geralmente não apresenta diacetil (butan-2,3-diona), embora seja permitido em níveis baixos. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 25 - 35 IBU Cor: 15 - 27 EBC Teor Alcoólico: 3,2 - 3,8 %
<i>American Pale Ale</i>	Uma <i>Ale</i> americana com moderado à forte amargor. Aroma de variedades de lúpulo e com uma vasta gama de possíveis características, incluindo cítricos, floral, pinho, resina, especiarias, frutas tropicais ou melão. Baixo a moderado sabor maltado pode mostrar, opcionalmente, pequenas quantidades de caráter de maltes especiais (de pão, torradas, biscoito, caramelo). Cor amarelo dourado. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 30 - 50 IBU Cor: 9 - 19 EBC Teor Alcoólico: 4,5 - 6,2 %
<i>Saison</i>	Uma <i>Ale</i> belga clara, refrescante, moderadamente amarga e com um final muito seco. Altamente carbonatada. Aromas e sabores frutados e condimentados. Normalmente, produzida com semente de coentro, raspas de limão siciliano, casca de laranja e cravo. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 20 - 35 IBU Cor: 9 - 27 EBC (pálida) ou 29 - 43 EBC (obscura) Teor Alcoólico: 3,5 - 9,5 %
<i>Irish Red Ale</i>	Uma <i>Ale</i> irlandesa, ligeiramente maltada, às vezes apresenta um suave dulçor inicial de caramelo/toffee. No paladar, notas de grãos, biscoito e tostada no final. Algumas versões podem destacar mais o caramelo e o dulçor, enquanto que outras favorecem o paladar de grãos e o tostado. Amargor moderado e cor cobre-avermelhada. Levedura: <i>Ale</i>	Amargor: 18 - 28 IBU Cor: 17 - 27 EBC Teor Alcoólico: 3,8 - 5,0 %
<i>English Porter</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa de cor marrom com um caráter torrado e amargo. Pode ter uma variedade de sabores torrados, sem notas de sabores queimados. Muitas vezes com um perfil de malte-caramelo chocolate.	Amargor: 18 - 35 IBU Cor: 39 - 59 EBC Teor Alcoólico: 4,0 - 5,4 %
<i>Oatmeal Stout</i>	Uma <i>Ale</i> inglesa maltada, tostada, muito escura e encorpada, com um sabor de aveia complementar. O dulçor, o equilíbrio e a impressão de aveia podem variar consideravelmente.	Amargor: 25 - 40 IBU Cor: 43 - 79 EBC Teor Alcoólico: 4,2 - 5,9 %
<i>Eisbock</i>	Uma <i>Lager</i> alemã escura, forte, maltada, muitas vezes com uma consistência viscosa e sabores fortes. Nela o álcool deve-se apresentar macio e quente, nunca queimante.	Amargor: 25 - 35 IBU Cor: 37 - 59 EBC Teor Alcoólico: 9,0 - 14,0 %
<i>Munich Dunkel</i>	Uma <i>Lager</i> Alemã caracterizada pela intensidade, riqueza e complexidade típica dos maltes mais escuros, acompanhada por produtos das reações de Maillard. Sabores de casca de pão, a maioria com notas de chocolate, mas nunca de torrado, áspero ou adstringente.	Amargor: 18 - 28 IBU Cor: 27 - 55 EBC Teor Alcoólico: 4,5 - 5,6 %
<i>American Light Lager</i>	Uma <i>Lager</i> americana altamente carbonatada. Com corpo muito leve. São projetadas quase sem sabor e para serem consumidas bem geladas.	Amargor: 8-12 IBU Cor: 4 - 6 EBC Teor alcoólico: 2,8-4,2 %
<i>Pilsener</i>	Uma <i>Lager</i> com origem na República Tcheca. Baixo amargor com sabor e aroma que remetem ao lúpulo. Cor amarelo dourada. No Brasil, são conhecidas como Pilsen. São projetadas quase sem sabor e para serem consumidos bem geladas.	Amargor: 6 - 12 IBU Cor: 7 - 12 EBC Teor alcoólico: 4,0 - 5,0 %
<i>Schwarzbier</i>	Uma <i>Lager</i> alemã escura que balanceia os sabores torrados e suaves de malte com um moderado amargor do lúpulo. O corpo leve contribui para que esta cerveja seja muito fácil de beber.	Amargor: 20 - 30 IBU Cor: 33 - 59 EBC Teor alcoólico: 4,4 - 5,4 %

Cabe destacar que as leveduras *Ale* e *Larger* não são as únicas empregadas na produção de cervejas. As cervejas do estilo *Lambic*, também denominadas de cervejas de fermentação espontânea, são produzidas com leveduras presentes na atmosfera (leveduras selvagens) e, em sua produção, a bebida fica em constante contato com o ar atmosférico. Além disso, na fermentação também pode ser utilizada uma mistura (*blend*) de diferentes leveduras ou a combinação delas com lactobacilos.<sup>1,8,88</sup>

### 3. Processos Químicos Envolvidos nas Etapas de Produção da Cerveja

A produção da cerveja pode ser descrita em sete etapas: moagem, mostura, fervura, fermentação, maturação, filtração e envase. A moagem do malte e, se for o caso, demais cereais, consiste na separação da casca e do endosperma do grão, permitindo seu melhor contato com a água. Nesse processo, deseja-se que a casca permaneça inteira ou menos fragmentada o possível, evitando sabores relacionados a taninos (amargo/adstringente). Enquanto que para o endosperma do grão, objetiva-se que sofra uma moagem fina, mas sem chegar a pó, mantendo o diâmetro na

ordem de milímetros, o que auxilia na redução da turbidez do produto final.<sup>49,50,74</sup>

Na mostura, o malte triturado é colocado em água e submetido a um aquecimento gradual de 40 a 78 °C por períodos de tempo determinados (técnica de rampas de temperatura). Nessa etapa, temperaturas entre 40 a 45 °C permitem a hidratação do grão e a ativação das enzimas ( $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase) que convertem o amido do cereal em açúcares fermentáveis e solúveis em água. De forma contínua, o sistema é aquecido de 50 a 55 °C, permitindo a quebra das proteínas que envolvem o amido para que, posteriormente, entre 60 a 72 °C, ocorra a ação da  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase sobre o amido. Ao término do processo são aplicadas temperaturas entre 76 a 78 °C com o objetivo de inativar as enzimas. O tempo em que o sistema permanecerá em cada intervalo de temperatura dependerá da configuração da receita escolhida, sendo que cada cervejaria aprimora esses valores de acordo com os resultados pretendidos.<sup>2,7,50</sup>

O amido dos cereais consiste em, aproximadamente, 75 % de amilopectina e 25 % de amilose (Figura 3). A amilopectina é um polímero ramificado, formado por  $\alpha$ -D-glicopiranosose, unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4 (linear) e  $\alpha$ -1,6 (ramificada), sendo que, em média, cada ramo tem 25 unidades de glicose. A amilose, por sua vez, é uma molécula linear composta por até 2000 unidades de glicose em ligações  $\alpha$ -1,4.<sup>14,90-93</sup>

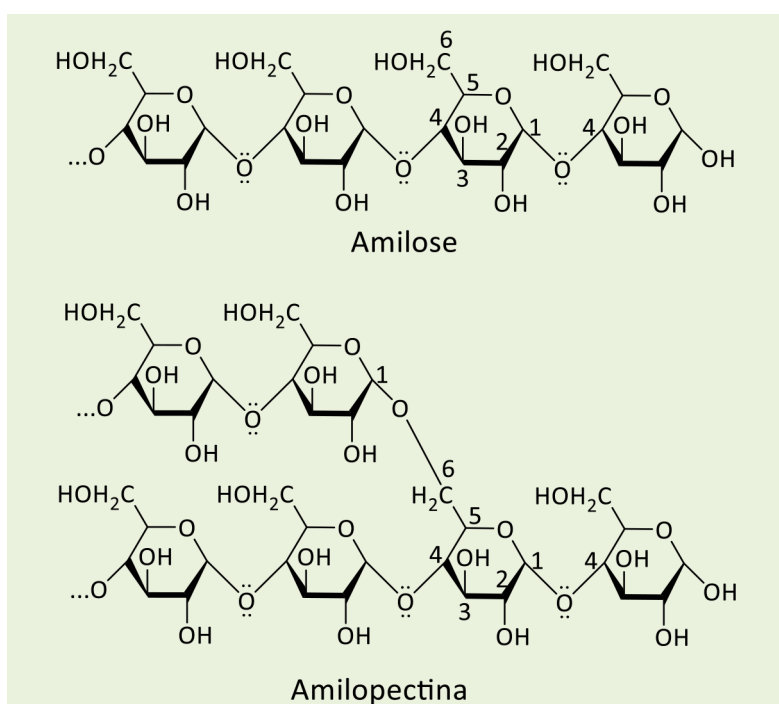


Figura 3. Estrutura química da Amilose e Amilopectina<sup>14,55</sup>

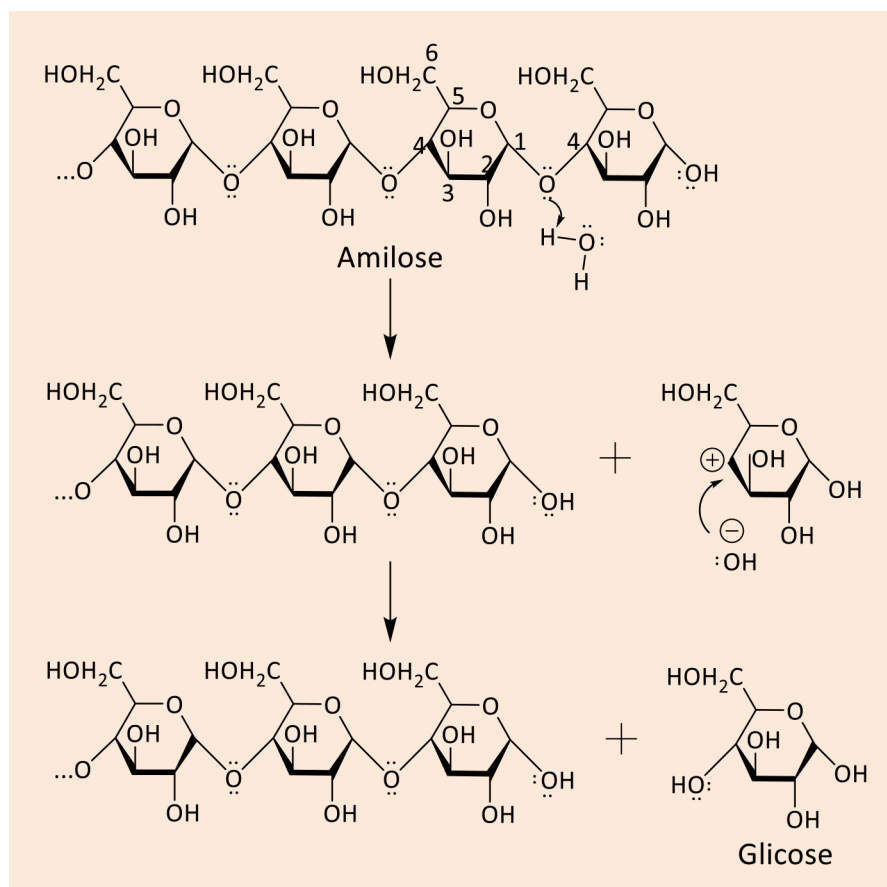


Esses compostos, mediante ação da  $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase, sofrem hidrólise (Figura 4). A  $\beta$ -amilase ataca as extremidades redutoras externas da amilopectina e amilose, liberando maltose (duas unidades de glicose). A quebra de unidades de açúcares chega ao fim ao se deparar com uma ligação  $\alpha$ -1,6. Em contrapartida,  $\alpha$ -amilase, quebra as ligações  $\alpha$ -1,4 que estão em pontos de ramificação, liberando dextrinas laterais e fornecendo substratos para a ação da  $\beta$ -amilase. A qualidade do malte está associada a taxa de conversão de amido em açúcares simples, denominado poder diastático, a qual está fortemente relacionada a concentração dessas enzimas no malte<sup>14,60,91,92</sup>. Em estudo recente realizado por Herrera-Gamboa e colaboradores<sup>94</sup> foi verificado que o poder diastático também pode sofrer influência do pH. No estudo, foi observado que o emprego de pH entre 5 e 6 favoreceu o aumento nessa propriedade, resultando na maior quantidade de açúcares fermentáveis.

A mostura, normalmente, tem duração de uma hora e resulta em um líquido açucarado,

cujas densidade é superior ao da água, chamado de mosto. Como etapa final, o malte triturado é removido e o mosto é aquecido entre 76 a 78 °C para inativação e degradação da maior parte das enzimas presentes nele, evitando sabores indesejáveis na bebida.<sup>50</sup>

A fervura é a etapa responsável pela esterilização do mosto filtrado, devido ao emprego de temperaturas próximas de 100 °C. Em geral, tem duração de uma hora, podendo ser superior em função da receita escolhida. Nesse estágio do processo é realizada a adição do lúpulo. A elevação na temperatura resulta na contração do anel dos  $\alpha$ -ácidos, resultando na formação de isômeros *cis* e *trans*, transformando-os em iso- $\alpha$ -ácidos, responsáveis pelo amargor da bebida.<sup>74,78,95</sup> O amargor irá variar em função da massa de cones usados, concentração de  $\alpha$ -ácidos na flor e do tempo em que ela permanecer em fervura. Em geral, os lúpulos de amargor são adicionados nos minutos iniciais, enquanto que os lúpulos de aroma são acrescentados nos minutos finais. Este procedimento é realizado com o intuito de evitar



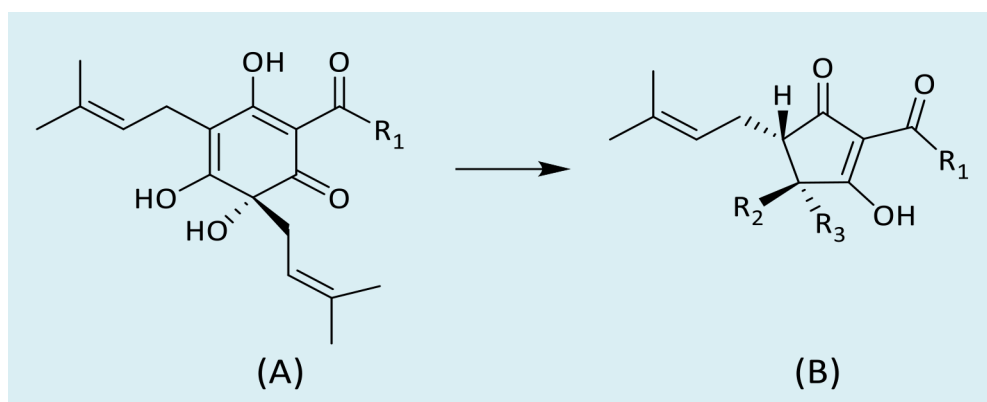
**Figura 4.** Hidrólise da Amilose durante a mostura, resultando em açúcar fermentável e solúvel em água (glicose).<sup>14,55</sup>

a perda dos compostos aromáticos e voláteis que irão compor o aroma e sabor da bebida.<sup>50,55,74</sup> As principais estruturas de iso- $\alpha$ -ácidos encontradas na cerveja e seus principais substituintes estão expostos na Figura 5 e Tabela 3.

O lúpulo também é rico em óleos essenciais. Em estudo realizado por Praet e colaboradores<sup>98</sup> foi observado que a fervura altera substancialmente o perfil aromático dos compostos oleosos presentes no lúpulo. No referido trabalho foi avaliado o impacto no perfil aromático de cervejas contendo óleo do lúpulo *Saaz* (empregado comumente em cervejas Pilsener), quando submetidas, ou não, ao processo de fervura. Para isso, as amostras foram preparadas através de microextração em fase sólida (MEFS), tendo a concentração dos compostos voláteis da amostra adsorvidas na fibra de sílica fundida recoberta por polímero, posicionada no espaço vazio acima da amostra (do inglês, *headspace*) Os compostos

foram analisados por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG-EM). Os autores verificaram que em cervejas sem a fervura do óleo houve predominância de aroma maltado e frutado e que, após fervura, o perfil sensorial mudou para notas florais, picantes, cítricas e lupuladas, características marcantes deste tipo de cerveja, indicando que a fervura também é importante para a composição de aromas característicos da bebida.

Na fervura também ocorrem reações que contribuem para a coloração da cerveja (Tabela 4), tais como as reações de Maillard e de oxidação de polifenóis. As reações de Maillard (Figura 6) são mais frequentes durante a fervura devido a elevada concentração de aminoácidos e carboidratos presentes no mosto. O aumento na temperatura propicia a reação entre esses compostos resultando em melanoidinas (cor), maltol (sabor de caramelo ou tostado) e funareol (sabor de morango).<sup>14,55,74</sup>



**Figura 5.** Estrutura dos principais  $\alpha$ -ácidos presentes no lúpulo (A) e dos principais iso- $\alpha$ -ácidos formados durante a fervura (B). As estruturas dos substituintes  $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  são apresentados na Tabela 3<sup>14,55,95,96</sup>

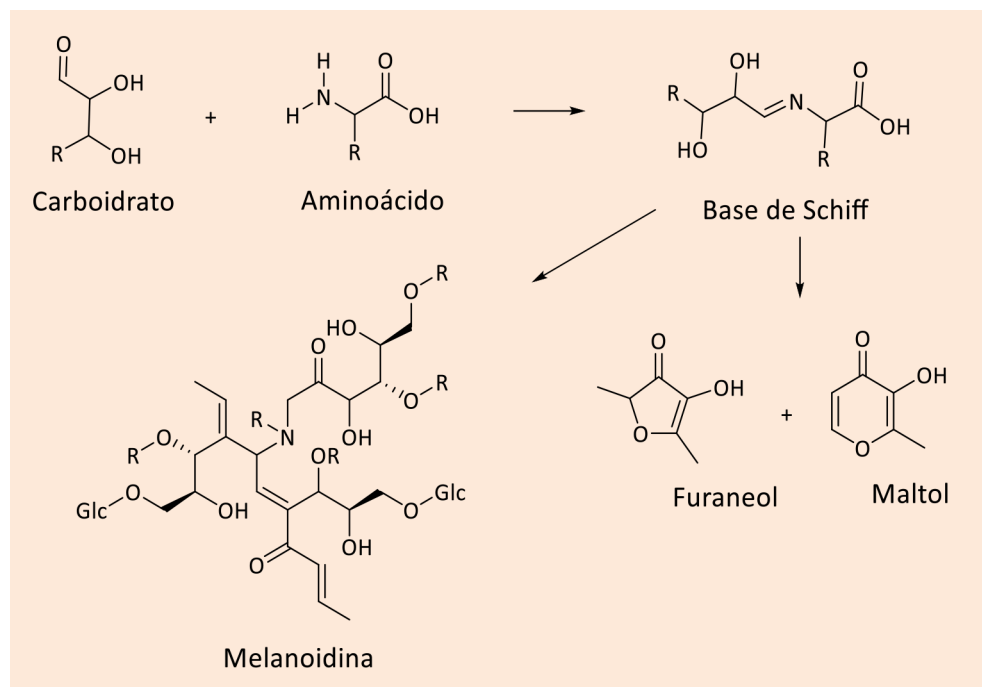
**Tabela 3.** Principais iso- $\alpha$ -ácidos encontrados na cerveja.<sup>14,74,95,97</sup>

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

\*  $\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$  é:

**Tabela 4.** Contribuição dos ingredientes na coloração da cerveja.<sup>14,55</sup>

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

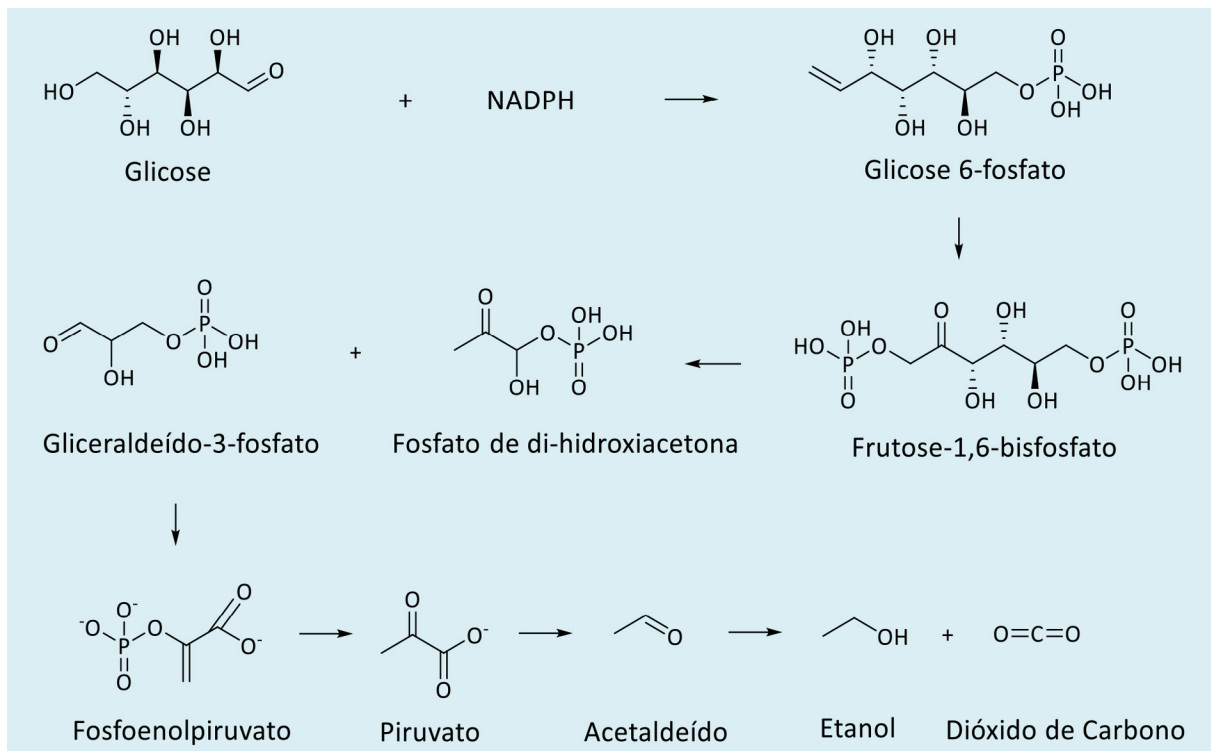
**Figura 6.** Mecanismo da reação de Maillard resultando na formação de melanoidinas, Furaneol e Maltol. Glc = Glicina e R = H, proteína, aminoácido ou Glicina<sup>14,74,99</sup>

Ao término da fervura, o mosto é resfriado até atingir a temperatura de trabalho da levedura escolhida, para posterior inoculação e início da fermentação alcoólica. Nesse processo (Figura 7), a glicose é oxidada formando piruvato que por sua vez sofre descarboxilação, na forma de CO<sub>2</sub>, devido a ação da enzima piruvato descarboxilase. A presença da coenzima tiamina pirofosfato nesse sistema resulta na formação de acetaldeído, o qual sofre redução produzindo etanol. Além disso, a rota metabólica das leveduras resulta na formação de alguns intermediários glicolíticos.<sup>100,101</sup>

A fermentação é realizada em tanques fechados (fermentadores) e equipados com válvulas que permitem a saída do CO<sub>2</sub> produzido, mas impedindo a entrada de ar atmosférico, possibilitando o controle de pressão e impedindo a contaminação proveniente do contato com o ar ambiente. Essa etapa pode durar de 5 a 10 dias dependendo do estilo da cerveja, resultando em um líquido com densidade inferior à do mosto devido a presença de álcoois. Nas cervejas

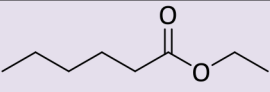
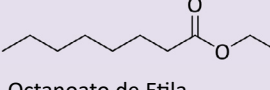
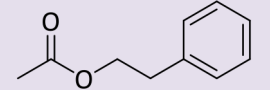
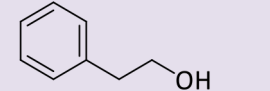
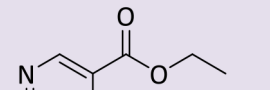
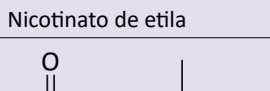
do estilo *Lambic*, os fermentadores não impedem o contato do mosto com o ar atmosférico, haja vista a necessidade do contato do mosto com as leveduras selvagens presentes no ar.<sup>1,14,55,74,97</sup>

Durante a fermentação do mosto também são formados outros compostos que podem conferir aromas e sabores agradáveis e desejáveis a cerveja, conforme apresentado na Tabela 5. Entretanto, alguns compostos podem incorporar características indesejáveis à bebida (Tabela 6), eles são denominados de *off flavours* e podem ser formados devido a contaminação por microrganismos, pela aplicação de temperaturas acima da recomendada ou até mesmo pela característica da levedura usada.<sup>14,40,51,87,102,103</sup> A quantificação de *off flavour* em cervejas pode ser realizada com grande sensibilidade através das técnicas de MEFS-*Headspace*/CG-EM e cromatografia gasosa acoplada à detecção de captura de elétrons (CG-DCE), conforme abordado na pesquisa de Da Silva e colaboradores.<sup>43</sup>


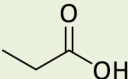
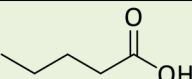
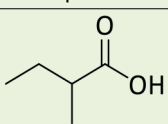

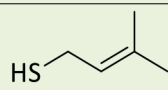
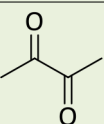

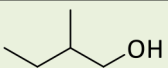



**Figura 7.** Mecanismo de conversão da glicose em etanol e dióxido de carbono pela ação das leveduras.

**Tabela 5.** Compostos químicos encontrados na cerveja e suas contribuições no aroma e sabor da bebida.<sup>14,38-40,55,83,87,104</sup>

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

**Tabela 6.** Compostos químicos encontrados na cerveja e *Off Flavour* causado na bebida.<sup>14,38,106,55,83,96,102,103,105-107</sup>

Substância	Concentração típica na cerveja (mg L <sup>-1</sup> )	Limiar do sabor (mg L <sup>-1</sup> )	<i>Off Flavour</i>
 Ácido acético	30 a 200	175	Ácido, Vinagre
 Ácido propanóico	1 a 5	150	Ácido, Vinagre e leite
 Ácido pentanóico	0,03 a 0,1	8	Suor, odor do corpo
 Ácido 2-Metilbutanóico	0,1 a 0,5	2	Queijo, lúpulo velho, suor
 Ácido Sulfídrico	-	-	Sulfetos, ovos podres
 3-Metil-2buten-1-tiol	0,001 a 0,1	0,01	Gambá, alho-poró
 Butan-2,3-diona	0,01 a 0,4	0,07 a 0,15	Amenteigado, pipoca de cinema
 Metanol	0,5 a 3,0	10.000	Alcoólico, solvente
 2-Metil butanol	8 a 30	65	Alcoólico, vinosa
 Dimetilsulfureto	-	-	Legumes cozidos: milho em conserva ou repolho

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

A maturação, consiste em um método eficaz de remoção de *off flavours*. Nele, a cerveja verde

(resultante da fermentação) é transferida do fermentador, o qual apresenta grande número de leveduras inativas/mortas no fundo, para um outro recipiente semelhante, mas isento de impurezas (maturador). A cerveja, em geral, é mantida no maturador por 30 dias, podendo esse período ser superior em função do estilo adotado. Este procedimento permite que as leveduras que ainda estão ativas no líquido continuem a produzir CO<sub>2</sub>, eliminando compostos voláteis indesejáveis.<sup>74,109</sup>

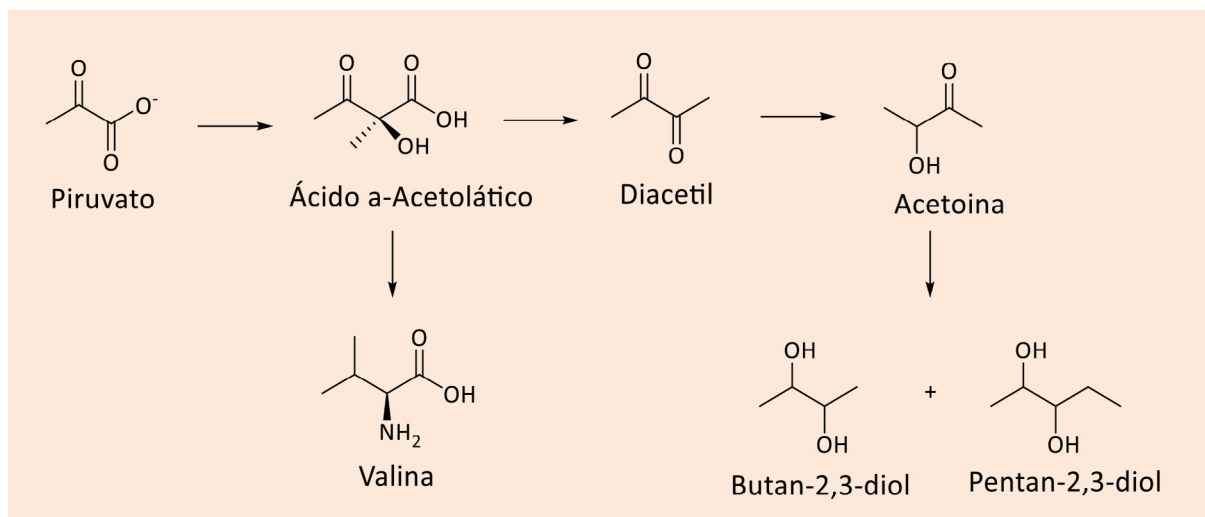
As leveduras catalisam a conversão de *off flavour* em substâncias com sabores neutros. Um *off flavour* comum em cervejas verdes é o diacetil (butano-2,3-diona), sendo substância indesejada na maioria dos estilos de cerveja, por exemplo as *Pilsener*. Este composto é formado durante a fermentação da bebida, a partir da reação enzimática do piruvato resultando em ácido  $\alpha$ -acético. Neste processo, o ácido  $\alpha$ -acético sofre oxidação espontânea para diacetil e, posteriormente, em acetoína (3-hidroxiбутano-2-ona). Findada a glicólise durante a fermentação, as leveduras atuam sobre o diacetil e acetoína, promovendo reações que irão converter esses compostos em butano-2,3-diol e pentano-2,3-diol, substâncias que não interferirão no sabor e aroma da cerveja.<sup>38,50,55,87,106,107,109</sup> O período de maturação pode ser reduzido com a oxigenação do mosto e aplicação de temperaturas superiores a da fermentação<sup>45</sup> ou com a adição de enzima  $\alpha$ -acetolactato descarboxilase.<sup>110</sup> Esta enzima atua acelerando o processo de formação de conversão do diacetil em butano-2,3-diol e pentano-2,3-diol, podendo reduzir o tempo de maturação para até 24 horas. O mecanismo de formação e conversão do diacetil durante a maturação é apresentado na Figura 8.

Durante a maturação também pode ser realizada a adição de lúpulo com o objetivo de intensificar aromas e dar frescor a cerveja. Em se tratando de uma adição de lúpulo em baixas temperaturas, essa técnica recebe o nome de *dry hopping*.<sup>7</sup>

A filtração tem como objetivo principal a eliminação das leveduras que ainda restam no líquido após a maturação, resultando em uma bebida mais brilhante e transparente. Em alguns casos a filtração pode ser precedida da centrifugação, aumentando a eficiência do processo. Os principais elementos filtrantes utilizados são compostos de diatomita ou de perlita. Cabe destacar que esse processo pode remover substâncias que conferem corpo a bebida, por isso algumas cervejarias optam por não utilizar essa técnica.<sup>1,7</sup>

O envase é a última etapa da produção de uma cerveja, geralmente feito em recipientes metálicos (latas de alumínio ou barris de aço inox) ou de vidro (vidro transparente, verde, âmbar e etc). No envase também é feita a adição de gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ), denominada carbonatação. A carbonatação pode ocorrer de duas maneiras, a primeira é aquela em que o  $\text{CO}_2$  é adicionado de maneira artificial à bebida por injeção, chamada de carbonatação forçada, enquanto a carbonatação natural, ou re-fermentação, consiste na adição de uma quantidade controlada de açúcares na bebida, no frasco de envase devidamente lacrado, iniciando nova fermentação, assim o  $\text{CO}_2$  formado irá dissolver no líquido, carbonatando-o.<sup>49,50,74,99,109</sup>

A escolha do recipiente de envase irá influenciar diretamente na conservação da bebida, conforme verificado no artigo de Ghasemi-Varnamkhasti e colaboradores.<sup>44</sup> No estudo, os autores analisaram o envelhecimento da cerveja com e sem álcool envasadas em latas de alumínio e garrafas de



**Figura 8.** Mecanismo de formação e conversão do diacetil durante a maturação<sup>14,99</sup>



vidro. Os pesquisadores submeteram a bebida a degradação por até 20 dias e o envelhecimento foi monitorado por voltametria cíclica. Como resultado, foi verificado que o envelhecimento provoca a oxidação da bebida, reduzindo a concentração de flavonoides presentes nela e que a melhor conservação da bebida ocorre quando há a presença de álcool e o envase da bebida é feito em latas, impedido a ação da luz no envelhecimento da cerveja.

O processo de produção da “cerveja” e do *Chopp* é o mesmo, entretanto, segundo a legislação brasileira,<sup>68</sup> ao sofrer pasteurização a bebida receberá o nome de “Cerveja”, caso não ocorra, o produto receberá a denominação de “*Chopp*”. A pasteurização, consiste na esterilização do líquido pela ação do calor e rápido resfriamento, resultando em um produto com maior durabilidade.

#### 4. Caracterização da Cerveja

As cervejas podem ser caracterizadas de acordo com suas propriedades organolépticas e físico-químicas. No Brasil, a determinação dessas propriedades é realizada conforme o Decreto Nº 6.871/2009 e da Instrução Normativa Nº 24/2005 (Brasil, 2008) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento que institui o Manual Operacional de Bebidas e Vinagres – MOBV.<sup>112</sup> De acordo com essa norma, o exame organoléptico da cerveja consiste em duas etapas, conforme descrito na Tabela 7, sendo a bebida classificada como NORMAL ou ANORMAL.

#### Propriedades físico-químicas

Diversas são as propriedades físico-químicas da cerveja, dentre elas pode-se destacar: teor alcoólico, cor, amargor e pH. Normalmente, as três primeiras são apresentadas nos rótulos das cervejas.<sup>49,74</sup> É importante destacar a necessidade do preparo da amostra, em especial, com a remoção do gás carbônico, o qual pode ser feito por agitação ou em banho de ultrassom, haja vista que a presença de CO<sub>2</sub> interferirá na obtenção correta dos dados.<sup>14,24,35,47,113–115</sup>

A presença de álcoois é uma das características marcantes das cervejas que, além de possuir efeitos psicotrópicos, auxilia na conservação da bebida. O teor alcoólico (%TA) ou grau alcoólico da cerveja, expressa em %v/v, é determinada pela quantidade de etanol na bebida. Essa propriedade pode ser estimada pela Equação 1, comumente utilizada por cervejeiros artesanais, utilizando a densidade do mosto (OG) e da bebida final sem gás (OF).<sup>50</sup> No Brasil, o método oficial para sua determinação consiste na destilação da bebida e posterior medição da densidade relativa do destilado a 20 °C. O grau alcoólico real é expresso em %v/v e está tabela do no MOBV de acordo com a densidade do destilado.<sup>112</sup> Em geral, as cervejas comerciais apresentam graduação alcoólica entre 4,5 a 6 %v/v.

$$\%TA = (OG - FG) \cdot 131,25 \quad (1)$$

As cervejas são caracterizadas pela sua acidez, normalmente expressa pela medida do pH, cujo valor desejado é  $\leq 4,3$ . A manutenção da acidez

**Tabela 7.** Critério da avaliação organoléptica das cervejas de acordo com o Manual Operacional de Bebidas e Vinagres<sup>112</sup>

Antes da abertura		No ato da abertura	
Característica a ser observada	Critério	O que avaliar	Critério
Aspecto	Ausência de elementos estranhos a natureza do produto.	Imediatamente no ato da abertura da embalagem	Identificar o odor, a aparência e a presença de gases (adicionados propositadamente ou devido a alguma anormalidade).
Coloração	Característica com a origem dos componentes da matéria prima.	Por degustação	A sensação na boca e possível alteração de sabor.
Limpidez	Ausência de corpos estranhos, depósitos e/ou turvações.		
Vazamentos	O recipiente não deve apresentar vazamento.		

na cerveja auxilia em sua conservação, evitando a proliferação de microrganismos indesejados.<sup>49,55,74</sup> No Brasil, o pH das cervejas deve ser determinado por potenciometria a 20 °C.<sup>112</sup> Normalmente, em uma produção não comercial são utilizadas fitas de pH,<sup>50</sup> entretanto outras técnicas podem ser utilizadas como espectroscopia na região do infravermelho próximo combinada a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*). No estudo de Giovenzana e colaboradores,<sup>16</sup> os autores realizaram análises, em linha, de cervejas em diferentes estágios de fermentação, totalizando 205 amostras. O emprego da técnica espectroscópica combinado a PCA resultou em modelo robusto para determinação desta propriedade, principalmente quando as amostras foram filtradas. Os autores destacaram no estudo a boa aplicabilidade da técnica voltada às análises rápidas e em batelada durante a linha de produção.

A coloração da cerveja é determinada por espectrofotometria, podendo ser expressa de acordo com o Método de Referência Padrão (SRM, do inglês *Standard Reference Method*) ou pela Convenção Europeia de Cervejeiros (EBC, do inglês *European Brewing Convention*). No Brasil, adota-se o método EBC, consistindo na medição da absorvância da amostra a 430 nm, no ultravioleta (UV).<sup>68</sup> A cor EBC é determinada conforme a Equação 2, onde EBC representa a cor da bebida,  $Abs_{430nm}$  a absorvância,  $f$  o fator de diluição da amostra e  $Cub$  igual a 50, se utilizadas cubetas de 10 mm, ou igual 25 para cubetas de 5 mm. Cervejas “claras” são aquelas com cor até 20 EBC, acima desse valor são consideradas “escuras”.<sup>47,68,116</sup>

$$EBC = Abs_{430nm} \cdot f \cdot Cub \quad (2)$$

O amargor da bebida é determinado em unidades internacionais de amargor (IBU, do inglês *International Bitterness Units*), que são equivalentes a concentração, em miligramas por litro, de iso- $\alpha$ -ácidos presentes na bebida. O método mais utilizado para determinação dessa propriedade é o EBC. Ele consiste na acidificação de 10 mL de cerveja com 0,5 mL de ácido clorídrico 6 mol·L<sup>-1</sup> e com posterior adição de 20 mL de isooctano. Posteriormente a mistura é agitada em agitador magnético por 15 minutos e centrifugada a 1000 rotações por minuto (rpm) durante 3 minutos. O sobrenadante (iso- $\alpha$ -ácidos) é removido e a absorvância no UV medida a 275

nm, usando isooctano como branco. O amargor, em IBU, é determinado de acordo com a Equação 3, onde  $Abs_{275nm}$  é a absorvância.<sup>46,47,96,117</sup>

$$IBU = Abs_{275nm} \cdot 50 \quad (3)$$

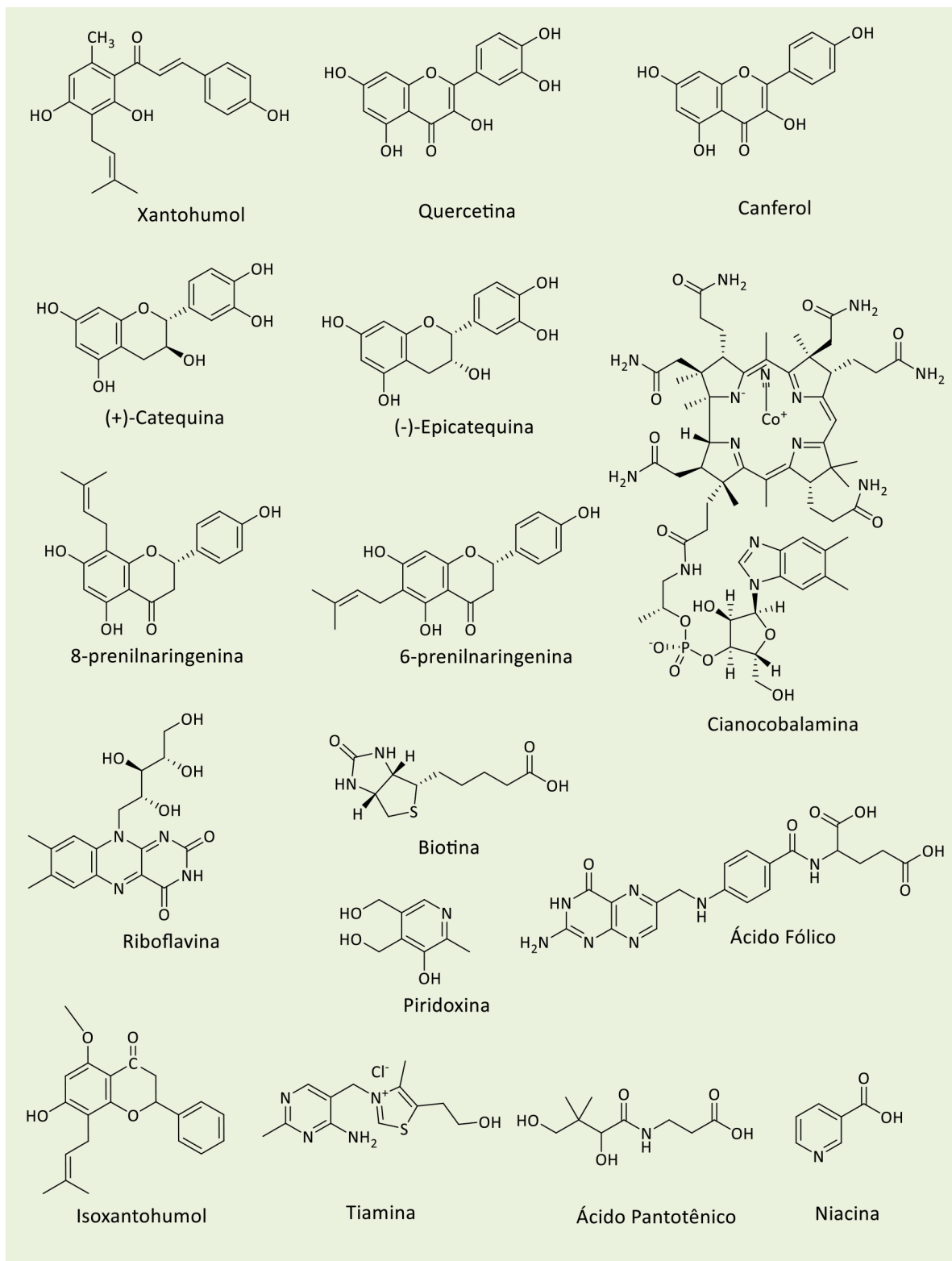
## 5. Atividades Biológicas de Compostos Presentes na Cerveja

Os ingredientes utilizados na produção da cerveja contribuem para a formação de uma bebida rica em proteínas, vitaminas do complexo B, minerais, fibras alimentares, compostos fenólicos, selênio e etanol. As concentrações típicas de diversas substâncias presentes na cerveja são apresentadas na Tabela 8, sendo que suas estruturas químicas são apresentadas na Figura 9. A presença desses compostos conferem a cerveja atividade antioxidante similar à do vinho, tendo como vantagem a maior concentração de vitaminas e proteínas, associada a um menor teor alcoólico.<sup>12,118</sup> Estudos presentes na literatura científica<sup>12,120-121</sup> indicam que a mortalidade de pessoas que ingerem cerca de 300 mL de cerveja por dia (10 a 15 g·L<sup>-1</sup> álcool) é menor do que aqueles que não consomem álcool ou que excedem essa quantidade. A atividade terapêutica de alguns compostos presentes na cerveja, quando associadas a um consumo moderado, é apresentada na Tabela 9.

Os compostos apresentados na Tabela 8, cujas estruturas são apresentadas na Figura 9, são comumente encontrados em cervejas puro malte. Entretanto, podem ser utilizados vários adjuntos com intuito de incrementar a concentração de diversos compostos, melhorando a atividade biológica da bebida, conforme exposto na Tabela 9. Rodrigues e colaboradores<sup>121</sup> realizaram a produção de cervejas usando o *kefir* como substituto da levedura cervejeira, como resultado foi observado aumento no efeito anti-inflamatório e antiulcerogênico da bebida, segundo os autores, atribuído ao efeito sinérgico dos probióticos do *kefir* com os polifenóis do malte. Cho e colaboradores<sup>72</sup> produziram cerveja com a adição de caqui, resultando em uma bebida com maior concentração de Mg, K, Ca e flavonoides, apresentando maior atividade antioxidante. Um incremento na atividade antioxidante também foi observado por Ulloa e colaboradores,<sup>48</sup> derivado

**Tabela 8.** Concentração aproximada de alguns compostos encontrados na cerveja.<sup>12,13,53,118,119,122</sup>

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



**Figura 9.** Estruturas químicas de alguns compostos bioativos encontrados nas cervejas, conforme concentrações apresentadas na Tabela 8<sup>12,13,53,118,119,122</sup>

**Tabela 9.** Atividade terapêutica de alguns compostos presentes na cerveja.

Compostos	Impactos medicinais
Etanol	Aumento do colesterol HDL, alívio do estresse, redução de triglicerídeos, proteção contra o envelhecimento oxidativo resultante do estresse, relaxação e combate à <i>helicobacter pylori</i> que infecta a mucosa do estômago, redução do risco de demência e melhora na biodisponibilidade dos flavonoides. <sup>12,119,125-131</sup>
Flavonoides	Efeito antioxidante, anti-inflamatório, prevenção modificações intracelulares por bactérias, melhora das funções cognitivas em idosos, alívio dos sintomas da pré-menopausa (ondas de calor), alívio do estresse, prevenção da diabetes, redução do metabolismo de células cancerígenas, inibição da osteoporose e auxilia no combate a úlceras. <sup>48,74,137-144,122,123,128,132-136</sup>
Fibras	Melhora o trânsito intestinal <sup>119</sup>
Xanthohumol	Inibição de efeitos citopáticos induzidos pelo HIV-1 e de sua replicação em células mononucleares do sangue periférico, ação preventiva contra a proliferação de células de câncer (mama, cólon e ovário) e proteção do DNA contra a genotoxicidade derivada do envelhecimento. <sup>137,138,141,145</sup>
Iso-alfa-ácidos	Ação anti-microbial para bactérias gram-positivas, inibição da osteoporose e prevenção contra o Alzheimer. <sup>96,136,146-148</sup>
Vitaminas do complexo B	Ação antifadiga, aumenta a eficácia de tratamentos contra infecções e diabetes, atua no metabolismo dos carboidratos e auxilia no combate a depressão. <sup>133,134,149-152</sup>
Aminoácidos	Reparação muscular, produção de energia e proteínas, melhora na memória, auxilia na resistência física, atua na síntese de colágeno e elastina, envolvidos na resposta imunológica do nosso corpo, podem estar associados a bons níveis de serotonina, contribuindo contra a depressão. <sup>53,128</sup>
Carboidratos	Principal fonte de energia utilizado pelo nosso corpo. Uma alimentação deficiente em carboidratos pode causar fraqueza, irritabilidade e depressão. <sup>53,128</sup>
Minerais	Composição dos ossos (Ca e Si), bom funcionamento do coração (K e Ca) e potencialização da insulina (Cr e Ca). <sup>7</sup>

da adição de própolis durante a produção da cerveja, resultando numa maior concentração de flavonoides frente as cervejas puro malte. A utilização de cereais não maltados como adjuntos pode reduzir os benefícios a saúde. Em estudo realizado por Fumi e colaboradores<sup>124</sup> foi verificado que a substituição do malte de cevada por milho reduziu a concentração de polifenóis na bebida. No estudo foram produzidas cervejas puro malte e com milho (91 % milho + 9 % malte de cevada m/m), resultando numa alteração da concentração de polifenóis na bebida de 336,5 mg L<sup>-1</sup> para 280 mg L<sup>-1</sup>.

## 6. Aplicação de Técnicas Analíticas Voltadas a Análise de Cervejas

O avanço tecnológico impactou diretamente na melhoria das técnicas analíticas, recursos computacionais e softwares de processamento de dados, possibilitando uma melhoria significativa nas metodologias de análise e investigação de matrizes complexas, tais como os alimentos. Quando voltadas ao setor alimentício, as técnicas analíticas podem ser empregadas na autenticação

de alimentos, tais como a verificação de origem (espécie, geográfica ou genética), conformidade do produto quanto ao rótulo, legislação local, métodos de produção, além de possibilitar a identificação de possíveis adulterações, falsificações e deterioração do produto.<sup>153,154</sup> Na literatura científica existem relatos do emprego de diversas técnicas analíticas voltadas a análise de cervejas, as quais serão discutidas a seguir. É importante destacar que, tais técnicas fornecem um grande volume de informações acerca das amostras, inviabilizando sua análise manual. Normalmente, os dados obtidos são tratados através de métodos estatísticos (ferramentas quimiométricas), possibilitando a extração das informações mais relevantes do conjunto.<sup>153</sup>

A aplicação do IV na autenticação de cervejas pode ser observado no estudo de Pierna e colaboradores,<sup>19</sup> no qual a técnica foi utilizada para diferenciar uma cerveja de alto valor de mercado, do tipo *Trapista* (produzida sob a supervisão de monges da Ordem Trapista), marca *Rocheport 8°*, das demais presentes no mercado. O tratamento dos espectros de IV por PCA resultou num modelo com uma sensibilidade e especificidade de 100 %, ou seja, todas as amostras foram corretamente

classificadas como Rochefort 8° ou de outro rótulo.

Biancolillo e colaboradores<sup>15</sup> avaliaram o emprego do IV com outras técnicas analíticas, visando a diferenciação da cerveja artesanal *Reale*, bebida de alto valor produzida pela cervejaria italiana *Birra del Borgo*, das demais presentes no mercado. No trabalho, foram analisadas 60 amostras de cervejas (19 *Reale*, 12 outras da *Birra del Borgo* e 29 de outros produtores) através das técnicas de termogravimetria, espectroscopia no infravermelho médio, infravermelho próximo e ultravioleta (UV) e no visível (Vis). Inicialmente, os dados obtidos referentes aos *fingerprints* de cada uma das técnicas foram tratados com intermédio das ferramentas quimiométricas de modelagem suave independente por analogia de classe (SIMCA, do inglês *Soft Independent Modeling by Class Analogy*) e de calibração multivariada por mínimos quadrados parciais para análise discriminante (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares for Discriminant Analysis*), não atingindo o objetivo proposto. Posteriormente, os autores utilizaram a estratégia da fusão de dados, na qual as informações dos *fingerprints* obtidos por cada técnica foram agrupadas e aplicadas as ferramentas quimiométricas autoescalar e PLS-DA, resultando num modelo com 100 % de sensibilidade e especificidade.

No estudo realizado por Duarte e colaboradores<sup>22</sup> foi proposto o uso conjunto do IV na região do médio com a RMN de <sup>1</sup>H como ferramenta para controle de qualidade de cervejas. Foram utilizadas bebidas dos tipos *Ale*, *Larger* e sem álcool. A PCA do espectro de infravermelho, na região entre 1200 e 800 cm<sup>-1</sup>, possibilitou separar as cervejas sem álcool das demais. A avaliação do espectro da RMN de <sup>1</sup>H permitiu a identificação de álcoois (propanol, isobutanol e isopentanol) em pequena quantidade nas cervejas sem álcool, enquanto o PCA na região dos carboidratos (3 – 6 ppm) e aromáticos (6 – 10 ppm) permitiu separação dos três tipos de cerveja.

No estudo de Duarte e colaboradores<sup>26</sup> foi empregada a RMN de <sup>1</sup>H na avaliação do perfil de carboidratos presentes nas cervejas. Na pesquisa, foram utilizados dois rótulos de cervejas do tipo *larger*, denominadas de *larger 1* e *larger 2* e um de *ale*, identificada como *ale 1*. A aplicação da técnica analítica possibilitou aos pesquisadores identificar que as cervejas *larger 1* e *ale 1* apresentaram mesmo

perfil de carboidratos, em geral, oligossacarídeos de glucose, enquanto a *larger 2* era constituída basicamente por monômeros de glucose, indicando que o malte empregado na produção da *larger 1* e *ale 1* tiveram a mesma origem ou processo de maltagem. A identificação de carboidratos em diferentes tipos de cerveja também foi abordada por Petersen e colaboradores.<sup>29</sup>

Almeida e colaboradores<sup>24</sup> empregaram a RMN de <sup>1</sup>H com intuito de verificar diferenças em uma marca de cerveja, devido a produção em três diferentes plantas fabris. A avaliação dos espectros e a aplicação de PCA na região dos hidrogênios aromáticos permitiu uma separação das amostras de acordo com seus locais de produção indicando necessidade de melhoria dos processos produtivos voltados a padronização do produto. No estudo de Rodrigues e colaboradores<sup>30</sup> a avaliação do espectro da RMN de <sup>1</sup>H, na região dos hidrogênios aromáticos por PCA e mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês *Partial Least Squares*) permitiu a identificação de compostos que são resultantes do envelhecimento da cerveja quando submetida a luz e calor, possibilitando a identificação de bebidas com armazenamento incorreto.

Pereira e colaboradores<sup>35</sup> avaliaram o perfil químico de cervejas comerciais brasileiras de 8 diferentes marcas, com intuito de desenvolver metodologia que permitisse a detecção de fraude derivada da troca de rótulos e tampas de cervejas de baixo custo pelas de maior valor. No estudo, foi empregada a espectrometria de massas com a ionização por *paper spray* (PS-EM) e foram obtidos espectros de 141 amostras de cerveja do estilo *American Lager*, sendo 3 marcas de maior valor comercial e 5 marcas de menor valor comercial. Os espectros de massas foram obtidos através de varreduras nos modos positivo e negativo, de 100-1800 m/z, região atribuída a malto-oligossacarídeos resultantes da hidrólise dos polissacarídeos da cevada durante os processos de mostura, fermentação e maturação da bebida. Os sinais desses açúcares foram identificados no modo positivo na forma de adutos de sódio e potássio, enquanto que no negativo na forma de cloretos e dihidrogenofosfatos. Tendo em vista a baixa estabilidade do modo negativo, apenas os dados do positivo foram tratados através de PCA, PLS-DA e do método de seleção dos preditores ordenados (OPS, do inglês *Ordered Predictors Selection*) resultando na construção de um modelo de classificação com 100 % de confiabilidade,



exatidão, acordância e concordância, permitindo a correta separação das amostras de acordo com seus respectivos fabricantes.

Gerrini e colaboradores<sup>38</sup> avaliaram por CG-EM a perda de compostos aromáticos voláteis durante a fermentação e o impacto sensorial caso esses compostos fossem recuperados. Foi verificado que durante a fermentação da cerveja ocorre grande liberação de gás carbônico e vapores de água e, junto a eles, são perdidos diversos compostos aromáticos, tais como ésteres (acetato de propila, acetato de isoamilo, etc.), álcoois (heptan-1-ol, octan-1-ol, etc.) e terpenos (linalol, citrionelol, etc.). Segundo os autores, a condensação, recuperação e reinjeção desses compostos durante a fermentação favorece as reações entre álcoois e ácidos, produzindo ésteres e propiciando ganhos sensoriais relevantes a bebida.

## 7. Conclusão

Visando contribuir para a ampliação de material científico, em língua portuguesa, sobre o tema, o presente trabalho trouxe em seu escopo uma revisão acerca dos aspectos e processos químicos envolvidos na produção cervejeira, a atividade biológica das substâncias normalmente encontradas na bebida e as técnicas analíticas e quimiométricas que podem ser empregadas na autenticação, verificação de origem, conformidade do produto, métodos de produção, estocagem e caracterização da cerveja.

Dentre as técnicas analíticas apresentadas, o UV constitui uma técnica consolidada para a determinação das propriedades físico-químicas cor e amargor, enquanto que para a determinação do pH têm-se a potenciometria. Foi observada uma aplicação bem versátil para o IV, o qual foi aplicado satisfatoriamente na determinação de pH, identificação de compostos na cerveja e autenticação da bebida quanto ao fabricante.

A utilização da RMN de <sup>1</sup>H mostrou-se promissora na identificação de carboidratos (3 – 6 ppm), aminoácidos, álcoois aromáticos e polifenóis (6 – 10 ppm) possibilitando a validação de origem da bebida e identificação de falhas na produção e conservação da bebida. O emprego mais recente da espectrometria de massas mostrou-se adequada para identificação de açúcares de elevada massa molecular e na identificação de adulterações na bebida.

O emprego da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas foi eficaz na identificação dos compostos voláteis presentes na cerveja. Contudo, não foi encontrado na literatura a aplicação de uma única técnica analítica para o estudo de cervejas. Cada método supracitado revela diferentes informações, apresentando-se como técnicas complementares para um estudo mais detalhado.

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos financiadores CAPES, CNPq e FAPES pelo suporte financeiro e a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) por possibilitar as condições necessárias ao desenvolvimento da pesquisa.

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Santos Bernardi, G.; Magro, J. D.; Mazutti, M. A.; Oliveira, J. V.; Di Luccio, M.; Zabot, G. L.; Tres, M. V.; Em *Engineering Tools in the Beverage Industry*; Holban, A.; Grumezescu, A., eds.; 1a. Ed., Woodhead Publishing: Sawston, 2019, cap 13. [CrossRef]
- <sup>2</sup> Meussdoerffer, F. G.; *Handbook of Brewing*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2009. [CrossRef]
- <sup>3</sup> Dietler, M. Alcohol: Anthropological/ Archaeological Perspectives. *Annual Review of Anthropology* **2006**, *35*, 229. [CrossRef]
- <sup>4</sup> Damerow, P. Sumerian Beer: The Origins of Brewing Technology in Ancient Mesopotamia. *Cuneiform Digital Library Journal* **2012**, *2*, 1. [Link]
- <sup>5</sup> Hornsey, I. S. *Encyclopedia of Food and Health*, 1a. ed, Waltham: Elsevier, 2016. [CrossRef]
- <sup>6</sup> World Health Organization. *Global status report on alcohol and health 2018*, World Health Organization: Geneva, 2018. [Link]
- <sup>7</sup> Morado, R.; *Larousse da Cerveja*, 1a. ed, Alaúde Editorial: São Paulo, 2017.
- <sup>8</sup> Alworth, J.; *The Beer Bible*, 1a. ed, Workman Publishing Co.: New York, 2015.
- <sup>9</sup> Barth, S. J.; *The Barth-Report: Hops 2018/2019*, Barth-Hass Group: Nuremberg, 2019. [Link]
- <sup>10</sup> Statista, Beer: Worldwide - Statista Market Forecast. Disponível em: <<https://www.statista.com/outlook/10010000/100/beer/worldwide>>. Acesso em 07 de dezembro de 2019.

- <sup>11</sup> Statista, Beer: Brazil - Statista Market Forecast. Disponível em: <<https://www.statista.com/outlook/10010000/115/beer/brazil>>. Acesso em 07 de dezembro de 2019.
- <sup>12</sup> Kaplan, N. M.; Palmer, B. F.; Denke, M. A. Nutritional and Health Benefits of Beer. *The American Journal of the Medical Sciences* **2000**, *320*, 320. [CrossRef]
- <sup>13</sup> Preedy, V. R.; *Beer in Health and Disease Prevention*, Elsevier: London, 2009. [CrossRef]
- <sup>14</sup> Hughes, E. D. B. P. S.; *Beer: Quality, Safety and Nutritional Aspects*, The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2001.
- <sup>15</sup> Biancolillo, A.; Bucci, R.; Magri, A. L.; Magri, A. D.; Marini, F. Data-fusion for multiplatform characterization of an italian craft beer aimed at its authentication. *Analytica Chimica Acta* **2014**, *820*, 23. [CrossRef]
- <sup>16</sup> Giovenzana, V.; Beghi, R.; Guidetti, R. Rapid evaluation of craft beer quality during fermentation process by vis/NIR spectroscopy. *Journal of Food Engineering* **2014**, *142*, 80. [CrossRef]
- <sup>17</sup> Grassi, S.; Amigo, J. M.; Lyndgaard, C. B.; Foschino, R.; Casiraghi, E. Beer fermentation: Monitoring of process parameters by FT-NIR and multivariate data analysis. *Food Chemistry* **2014**, *155*, 279. [CrossRef]
- <sup>18</sup> Mignani, A. G.; Ciaccheri, L.; Mencaglia, A. A.; Ottevaere, H.; Báca, E. E. S.; Thienpont, H. Optical measurements and pattern-recognition techniques for identifying the characteristics of beer and distinguishing Belgian beers. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2013**, *179*, 140. [CrossRef]
- <sup>19</sup> Fernández Pierna, J. A.; Duponchel, L.; Ruckebusch, C.; Bertrand, D.; Baeten, V.; Dardenne, P. Trappist beer identification by vibrational spectroscopy: A chemometric challenge posed at the "Chimiométrie 2010" congress. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **2012**, *113*, 2. [CrossRef]
- <sup>20</sup> Polshin, E.; Aernouts, B.; Saeys, W.; Delvaux, F.; Delvaux, F. R.; Saison, D.; Hertog, M.; Nicolai, B. M.; Lammertyn, J. Beer quality screening by FT-IR spectrometry: Impact of measurement strategies, data pre-processings and variable selection algorithms. *Journal of Food Engineering* **2011**, *106*, 188. [CrossRef]
- <sup>21</sup> Ghasemi-Varnamkhashti, M.; Forina, M. NIR spectroscopy coupled with multivariate computational tools for qualitative characterization of the aging of beer. *Computers and Electronics in Agriculture* **2014**, *100*, 34. [CrossRef]
- <sup>22</sup> Duarte, I. F.; Barros, A.; Almeida, C.; Spraul, M.; Gil, A. M. Multivariate Analysis of NMR and FTIR Data as a Potential Tool for the Quality Control of Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2004**, *52*, 1031. [CrossRef]
- <sup>23</sup> Pinto, M.; Coelho, E.; Nunes, A.; Brandão, T.; Coimbra, M. A. Valuation of brewers spent yeast polysaccharides: A structural characterization approach. *Carbohydrate Polymers* **2015**, *116*, 215. [CrossRef]
- <sup>24</sup> Almeida, C.; Duarte, I. F.; Barros, A.; Rodrigues, J.; Spraul, M.; Gil, A. M. Composition of Beer by <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy: Effects of Brewing Site and Date of Production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2006**, *54*, 700. [CrossRef]
- <sup>25</sup> Duarte, I.; Barros, A.; Belton, P. S.; Righelato, R.; Spraul, M.; Humpfer, E.; Gil, A. M. High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Multivariate Analysis for the Characterization of Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2002**, *50*, 2475. [CrossRef]
- <sup>26</sup> Duarte, I. F.; Godejohann, M.; Braumann, U.; Spraul, M.; Gil, A. M. Application of NMR spectroscopy and LC-NMR/MS to the identification of carbohydrates in beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51*, 4847. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>27</sup> Rodrigues, J. E. A.; Erny, G. L.; Barros, A. S.; Esteves, V. I.; Brandão, T.; Ferreira, A. A.; Cabrita, E.; Gil, A. M. Quantification of organic acids in beer by nuclear magnetic resonance (NMR)-based methods. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *674*, 166. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>28</sup> Kuballa, T.; Brunner, T. S.; Thongpanchang, T.; Walch, S. G.; Lachenmeier, D. W. Application of NMR for authentication of honey, beer and spices. *Current Opinion in Food Science* **2018**, *19*, 57. [CrossRef]
- <sup>29</sup> Petersen, B. O.; Nilsson, M.; Bøjstrup, M.; Hindsgaul, O.; Meier, S. <sup>1</sup>H NMR spectroscopy for profiling complex carbohydrate mixtures in non-fractionated beer. *Food Chemistry* **2014**, *150*, 65. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>30</sup> Rodrigues, J. A.; Barros, A. S.; Carvalho, B.; Brandão, T.; Gil, A. M. Probing beer aging chemistry by nuclear magnetic resonance and multivariate analysis. *Analytica Chimica Acta* **2011**, *702*, 178. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>31</sup> da Silva, L. A.; Flumignan, D. L.; Tininis, A. G.; Pezza, H. R.; Pezza, L. Discrimination of Brazilian lager beer by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy combined with chemometrics. *Food Chemistry* **2019**, *272*, 488. [CrossRef]

- <sup>32</sup> Khatib, A.; Wilson, E. G.; Kim, H. K.; Lefeber, A. W. M.; Erkelens, C.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. Application of two-dimensional J-resolved nuclear magnetic resonance spectroscopy to differentiation of beer. *Analytica Chimica Acta* **2006**, *559*, 264. [CrossRef]
- <sup>33</sup> Andrés-Iglesias, C.; Blanco, C. A.; Blanco, J.; Montero, O. Mass spectrometry-based metabolomics approach to determine differential metabolites between regular and non-alcohol beers. *Food Chemistry* **2014**, *157*, 205. [CrossRef]
- <sup>34</sup> Araújo, A. S.; da Rocha, L. L.; Tomazela, D. M.; Sawaya, A. C. H. F.; Almeida, R. R.; Catharino, R. R.; Eberlin, M. N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of beer. *Analyst* **2005**, *130*, 884. [CrossRef]
- <sup>35</sup> Pereira, H. V.; Amador, V. S.; Sena, M. M.; Augusti, R.; Piccin, E. Paper spray mass spectrometry and PLS-DA improved by variable selection for the forensic discrimination of beers. *Analytica Chimica Acta* **2016**, *940*, 104. [CrossRef]
- <sup>36</sup> Martínez-Huélamo, M.; Jáuregui, O.; Estruch, R.; Lamuela-Raventós, R.; Chiva-Blanch, G.; Vallverdú-Queralt, A.; Quifer-Rada, P. A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS). *Food Chemistry* **2014**, *169*, 336. [CrossRef]
- <sup>37</sup> Langos, D.; Granvogl, M. Studies on the Simultaneous Formation of Aroma-Active and Toxicologically Relevant Vinyl Aromatics from Free Phenolic Acids during Wheat Beer Brewing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2016**, *64*, 2325. [CrossRef]
- <sup>38</sup> Guerrini, L.; Angeloni, G.; Masella, P.; Calamai, L.; Parenti, A. A Technological Solution to Modulate the Aroma Profile during Beer Fermentation. *Food and Bioprocess Technology* **2018**, *11*, 1259. [CrossRef]
- <sup>39</sup> Hiralal, L.; Olaniran, A. O.; Pillay, B. Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2014**, *117*, 57. [CrossRef]
- <sup>40</sup> Kishimoto, T.; Noba, S.; Yako, N.; Kobayashi, M.; Watanabe, T. Simulation of Pilsner-type beer aroma using 76 odor-active compounds. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2018**, *126*, 330. [CrossRef]
- <sup>41</sup> Čulík, J.; Horák, T.; Slabý, M.; Čejka, P.; Olšovská, J. Determination of short chain fatty acids isomers, the sensory active products of hops aging, in beer. *Kvasny Prumysl* **2013**, *59*, 86. [CrossRef]
- <sup>42</sup> Rascón, A. J.; Azzouz, A.; Ballesteros, E. Use of semi-automated continuous solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic and non-alcoholic drinks from Andalucía (Spain). *Journal of the Science of Food and Agriculture* **2019**, *99*, 1117. [CrossRef]
- <sup>43</sup> Silva, G. C.; Silva, A. A. S.; Silva, L. S. N.; Godoy, R. L. D. O.; Nogueira, L. C.; Quitério, S. L.; Raices, R. S. L. Method development by GC-ECD and HS-SPME-GC-MS for beer volatile analysis. *Food Chemistry* **2015**, *167*, 71. [CrossRef]
- <sup>44</sup> Ghasemi-Varnamkhasti, M.; Rodríguez-Méndez, M. L.; Mohtasebi, S. S.; Apetrei, C.; Lozano, J.; Ahmadi, H.; Razavi, S. H.; Antonio de Saja, J. Monitoring the aging of beers using a bioelectronic tongue. *Food Control* **2012**, *25*, 216. [CrossRef]
- <sup>45</sup> Yamauchi, Y.; Okamoto, T.; Murayama, H.; Kajino, K.; Amikura, T.; Hiratsu, H.; Nagara, A.; Kamiya, T.; Inoue, T. Rapid maturation of beer using an immobilized yeast bioreactor. 1. Heat conversion of cw-acetolactate. *Journal of Biotechnology* **1995**, *38*, 101. [CrossRef]
- <sup>46</sup> Philpott, J.; Taylor, D. M.; Williams, D. R. Critical Assessment of Factors Affecting the Accuracy of the IoB Bitterness Method. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **1997**, *55*, 103. [CrossRef]
- <sup>47</sup> Manual Analysis Methods for the Brewery Industry. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/Brochure/1/analysis-methods-for-the-brewery-industry.pdf>> Acesso em: 09 maio 2019.
- <sup>48</sup> Ulloa, P. A.; Vidal, J.; Ávila, M. I.; Labbe, M.; Cohen, S.; Salazar, F. N. Effect of the Addition of Propolis Extract on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Craft Beer. *Journal of Chemistry* **2017**, *2017*, 1. [CrossRef]
- <sup>49</sup> Harrison, M. A.; Albanese, J. B.; Em Reference Module in Life Sciences; Schaechter, M., eds.; 3a. ed., Academic Press: London, 2009. [CrossRef]
- <sup>50</sup> Palmer, J.; *How To Brew: Everything You Need to Know to Brew Great Beer Every Time*, 4a. ed., Brewers Publications: Boulder, 2017.
- <sup>51</sup> Bettenhausen, H. M.; Barr, L.; Broeckling, C. D.; Chaparro, J. M.; Holbrook, C.; Sedin, D.; Heuberger, A. L. Influence of malt source on beer chemistry, flavor, and flavor stability. *Food Research International* **2018**, *113*, 487. [CrossRef]

- <sup>52</sup> Galafassi, S.; Merico, A.; Pizza, F.; Hellborg, L.; Molinari, F.; Piškur, J.; Compagno, C. Dekkera/Brettanomyces yeasts for ethanol production from renewable sources under oxygen-limited and low-pH conditions. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **2011**, *38*, 1079. [CrossRef]
- <sup>53</sup> Bamforth, C. W.; *Beer: Health and nutrition*, Blackwell Science: Orford, 2004.
- <sup>54</sup> Wunderlich, S.; Back, W.; General Aspects of Beer and Constituents - Beer Making, Hops and Yeast, Academic Press: London, 2009. [CrossRef]
- <sup>55</sup> Barth, R.; *The Chemistry of Beer: The Science in the Suds*, John Wiley & Sons, Inc: Hoboken, 2013.
- <sup>56</sup> Evangelista, A. F.; Biazus, J. P. M.; Santana, J. C. C.; Jordão, E.; Souza, R. R. de Produção e estudo do potencial de hidrólise de uma nova fonte de enzimas amilolíticas a partir do malte de milho (*Zea mays*). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais* **2005**, *7*, 1. [Link]
- <sup>57</sup> Monsan, P.; Paul, F. Enzymatic synthesis of oligosaccharides. *FEMS Microbiology Reviews* **1995**, *16*, 187. [CrossRef]
- <sup>58</sup> Jégou, S.; Douliez, J.-P.; Mollé, D.; Boivin, P.; Marion, D. Evidence of the Glycation and Denaturation of LTP1 during the Malting and Brewing Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2001**, *49*, 4942. [CrossRef]
- <sup>59</sup> Wrigley, C.; Faubion, J.; *Encyclopedia of Food Grains*, 2a. ed, Elsevier Science Publishing Co Inc: San Diego, 2016.
- <sup>60</sup> Evans, D. E.; MacLeod, L. C.; Eglinton, J. K.; Gibson, C. E.; Zhang, X.; Wallace, W.; Skerritt, J. H.; Lance, R. C. M. Measurement of Beta-amylase in Malting Barley (*Hordeum vulgare*L.). I. Development of a Quantitative ELISA for Beta-amylase. *Journal of Cereal Science* **1997**, *26*, 229. [CrossRef]
- <sup>61</sup> Fincher, G. B. Molecular and Cellular Biology Associated with Endosperm Mobilization in Germinating Cereal Grains. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* **1989**, *40*, 305. [CrossRef]
- <sup>62</sup> Brookes, P. A.; Lovett, D. A.; MacWilliam, I. C. The steeping of barley. A review of the metabolic consequences of water uptake, and their practical implications. *Journal of the Institute of Brewing* **1976**, *82*, 14. [CrossRef]
- <sup>63</sup> Hampson, T.; *The Beer Book*, First American Edition: New York, 2008.
- <sup>64</sup> Hippeli, S.; Elstner, E. F. Are Hydrophobins and/or Non-Specific Lipid Transfer Proteins Responsible for Gushing in Beer? New Hypotheses on the Chemical Nature of Gushing Inducing Factors. *Zeitschrift für Naturforschung C* **2002**, *57*, 1. [CrossRef]
- <sup>65</sup> Di Ghionno, L.; Sileoni, V.; Marconi, O.; De Francesco, G.; Perretti, G. Comparative study on quality attributes of gluten-free beer from malted and unmalted teff [*Eragrostis tef* (zucc.) trotter]. *LWT - Food Science and Technology* **2017**, *84*, 746. [CrossRef]
- <sup>66</sup> Prestes, D. N.; Spessato, A.; Talhamento, A.; Gularte, M. A.; Schirmer, M. A.; Vanier, N. L.; Rombaldi, C. V. The addition of defatted rice bran to malted rice improves the quality of rice beer. *LWT - Food Science and Technology* **2019**, 108262. [CrossRef]
- <sup>67</sup> Ceccaroni, D.; Sileoni, V.; Marconi, O.; De Francesco, G.; Lee, E. G.; Perretti, G. Specialty rice malt optimization and improvement of rice malt beer aspect and aroma. *LWT* **2019**, *99*, 299. [CrossRef]
- <sup>68</sup> Decreto Nº 6.871 de 04 de junho de 2009. Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm)>. Acesso em: 12 janeiro 2019.
- <sup>69</sup> Decreto Nº 9.902, de 08 de julho de 2019. Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/ato2019-2022/2019/decreto/D9902.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2019-2022/2019/decreto/D9902.htm)>. Acesso em: 08 julho de 2019.
- <sup>70</sup> Instrução Normativa Nº 54 de 05 de novembro de 2001. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-54-de-5-de-novembro-de-2001.doc/view>>. Acesso em: 10 janeiro 2019.
- <sup>71</sup> Valdez, L. M.; Em *Production and Management of Beverages*, Holban, A.; Grumezescu, A., eds.; 1ª. Ed., Woodhead Publishing: Sawston, 2018, cap 9.
- <sup>72</sup> Cho, J.-H.; Kim, I.-D.; Dhungana, S. K.; Do, H.-M.; Shin, D.-H. Persimmon fruit enhanced quality characteristics and antioxidant potential of beer. *Food Science and Biotechnology* **2018**, *27*, 1067. [CrossRef]
- <sup>73</sup> Rosa, N. A.; Afonso, J. C. A Química da Cerveja. *Química Nova na Escola* **2015**, *37*, 98. [CrossRef]
- <sup>74</sup> Kunze, W.; *Technology, Brewing and Malting*, 3a. ed, VLB Berlin: Berlin, 2004.
- <sup>75</sup> Stewart, G. G.; *Handbook of Brewing*, CRC Press: Boca Raton, 2017.



- <sup>76</sup> D'Avila, R.; Luvielmo, M.; Mendonça, C. R.; Jantzen, M. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. *Estudos Tecnológicos em Engenharia* **2012**, *8*, 60. [[CrossRef](#)]
- <sup>77</sup> Kavalier, A. R.; Ma, C.; Figueroa, M.; Kincaid, D.; Matthews, P. D.; Kennelly, E. J. Targeted analysis of polyphenol metabolism during development of hop (*Humulus lupulus* L.) cones following treatment with prohexadione-calcium. *Food Chemistry* **2014**, *145*, 254. [[CrossRef](#)]
- <sup>78</sup> Karabín, M.; Hudcová, T.; Jelínek, L.; Dostálek, P. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **2016**, *15*, 542. [[CrossRef](#)]
- <sup>79</sup> Kirkpatrick, K. R.; Shellhammer, T. H. Evidence of Dextrin Hydrolyzing Enzymes in Cascade Hops (*Humulus lupulus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2018**, *66*, 9121. [[CrossRef](#)]
- <sup>80</sup> Maliarova, M.; Girmanova, J.; Lehotay, J.; Maliar, T.; Kraic, J. Flavonols HPLC Analysis, in Vitro Biological Activities in Selected *Humulus Lupulus* L. Genotypes. *Nova Biotechnologica et Chimica* **2013**, *12*, 129. [[CrossRef](#)]
- <sup>81</sup> Mudura, E.; Coldea, T. Hop-Derived Prenylflavonoids and Their Importance in Brewing Technology – A Review. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology* **2015**, *72*, 195. [[CrossRef](#)]
- <sup>82</sup> Salanță, L. C.; Tofană, M.; Socaci, S.; Mudura, E.; Fărcaș, A.; Pop, C.; Pop, A.; Odagiu, A. Characterisation of hop varieties grown in Romania based on their contents of bitter acids by HPLC in combination with chemometrics approach. *Czech Journal of Food Sciences* **2016**, *33*, 148. [[CrossRef](#)]
- <sup>83</sup> Callemien, D.; Collin, S. Structure, organoleptic properties, quantification methods, and stability of phenolic compounds in beer-A review. *Food Reviews International* **2010**, *26*, 1. [[CrossRef](#)]
- <sup>84</sup> Gonçalves, M.; Pontes, A.; Almeida, P.; Barbosa, R.; Serra, M.; Libkind, D.; Hutzler, M.; Gonçalves, P.; Sampaio, J. P. Distinct Domestication Trajectories in Top-Fermenting Beer Yeasts and Wine Yeasts. *Current Biology* **2016**, *26*, 2750. [[CrossRef](#)]
- <sup>85</sup> Serra Colomer, M.; Funch, B.; Forster, J. The raise of *Brettanomyces* yeast species for beer production. *Current Opinion in Biotechnology* **2019**, *56*, 30. [[CrossRef](#)]
- <sup>86</sup> Gallone, B.; Mertens, S.; Gordon, J. L.; Maere, S.; Verstrepen, K. J.; Steensels, J. Origins, evolution, domestication and diversity of *Saccharomyces* beer yeasts. *Current Opinion in Biotechnology* **2018**, *49*, 148 [[CrossRef](#)]
- <sup>87</sup> Sparrow, J.; *Wild brews: beer beyond the influence of brewer's yeast*, Brewers Publications: Boulder, 2005.
- <sup>88</sup> Holt, S.; Mukherjee, V.; Lievens, B.; Verstrepen, K. J.; Thevelein, J. M. Bioflavoring by non-conventional yeasts in sequential beer fermentations. *Food Microbiology* **2018**, *72*, 55. [[CrossRef](#)]
- <sup>89</sup> Reinoso-Carvalho, F.; Dakduk, S.; Wagemans, J.; Spence, C. Dark vs. light drinks: The influence of visual appearance on the consumer's experience of beer. *Food Quality and Preference* **2019**, *74*, 21. [[CrossRef](#)]
- <sup>90</sup> Jurková, M.; Horák, T.; Hašková, D.; Čulík, J.; Čejka, P.; Kellner, V. Control of antioxidant beer activity by the mashing process. *Journal of the Institute of Brewing* **2012**, *118*, 230. [[CrossRef](#)]
- <sup>91</sup> Veloso de Oliveira, G. A.; Schneedorf, J. M. Equilíbrio químico e cinética enzimática da interação de  $\alpha$ -amilase com compostos fenólicos encontrados em cerveja. *Química Nova* **2017**, *40*, 726. [[CrossRef](#)]
- <sup>92</sup> Wenwen, Y.; Tao, K.; Gidley, M. J.; Fox, G. P.; Gilbert, R. G. Molecular brewing: Molecular structural effects involved in barley malting and mashing. *Carbohydrate Polymers* **2019**, *206*, 583. [[CrossRef](#)]
- <sup>93</sup> Rodríguez, Y. B.; Aguilar, I. G.; Almeida e Silva, J. B. de Utilização do malte de sorgo na produção de cerveja: revisão bibliográfica. *Brazilian Journal of Food Technology* **2018**, *21*, 19. [[CrossRef](#)]
- <sup>94</sup> Herrera-Gamboa, J. G.; López-Alvarado, C. B.; Pérez-Ortega, E.; Damas-Buenrostro, L. C.; Cabada-Amaya, J. C.; Pereyra-Alfárez, B. Proteomic analysis of two malting barleys (*Hordeum vulgare* L.) and their impact on wort quality. *Journal of Cereal Science* **2018**, *80*, 150. [[CrossRef](#)]
- <sup>95</sup> Burns, C. S.; Heyerick, A.; De Keukeleire, D.; Forbes, M. D. E. Mechanism for formation of the lightstruck flavor in beer revealed by time-resolved electron paramagnetic resonance. *Chemistry: A European Journal* **2001**, *7*, 4553. [[CrossRef](#)]
- <sup>96</sup> Caballero, I.; Blanco, C. A.; Porras, M. Iso- $\alpha$ -acids, bitterness and loss of beer quality during storage. *Trends in Food Science & Technology* **2012**, *26*, 21. [[CrossRef](#)]

- <sup>97</sup> Bamforth, C. W.; Russell, I.; Bamforth, C. W.; Stewart, G.; *Beer: A Quality Perspective*, Academic Press: London, 2008.
- <sup>98</sup> Praet, T.; Van Opstaele, F.; Steenackers, B.; De Brabanter, J.; De Vos, D.; Aerts, G.; De Cooman, L. Changes in the hop-derived volatile profile upon lab scale boiling. *Food Research International* **2015**, *75*, 1. [CrossRef]
- <sup>99</sup> Morales-toyo, M. Reacciones químicas en la cerveza. *Revista Química PUCP* **2018**, *32*, 4. [Link]
- <sup>100</sup> Banat, I. M.; Nigam, P.; Singh, D.; Marchant, R.; Mchale, A. P. Review : Ethanol production at elevated temperatures and alcohol concentrations : Part I - Yeasts in general. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **1998**, *14*, 809. [CrossRef]
- <sup>101</sup> Bai, F. W.; Anderson, W. A.; Moo-young, M. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances* **2008**, *26*, 89. [CrossRef]
- <sup>102</sup> Desobgo, Z. S. C.; Stafford, R. A.; Metcalfe, D. J. A. Dimethyl Sulfide Stripping Behavior during Wort Boiling Using Response Surface Methodology. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **2015**, *73*, 84. [CrossRef]
- <sup>103</sup> Desobgo, Z. S. C.; Stafford, R. A.; Metcalfe, D. J. A. Modeling of Dimethyl Sulfide Stripping Behavior When Applying Delayed Onset of Boiling during Wort Boiling. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **2017**, *75*, 269. [CrossRef]
- <sup>104</sup> Gonzalez Viejo, C.; Fuentes, S.; Torrico, D. D.; Godbole, A.; Dunshea, F. R. Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. *Food Chemistry* **2019**, *30*, 293. [CrossRef]
- <sup>105</sup> Lentz, M. The Impact of Simple Phenolic Compounds on Beer Aroma and Flavor. *Fermentation* **2018**, *4*, 20. [CrossRef]
- <sup>106</sup> Drost, B. W.; van den Berg, R.; Freijee, F. J. M.; van der Velde, E. G.; Hollemans, M. Flavor Stability. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **1990**, *48*, 124. [CrossRef]
- <sup>107</sup> Zhu, M.; Cui, Y. Determination of 4-vinylgaiacol and 4-vinylphenol in top-fermented wheat beers by isocratic high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **2013**, *56*, 1018. [CrossRef]
- <sup>108</sup> Lermusieau, G.; Noël, S.; Liégeois, C.; Collin, S. Nonoxidative Mechanism for Development of Trans -2-Nonenal in Beer. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **1999**, *57*, 29. [CrossRef]
- <sup>109</sup> De Keukeleire, D. Fundamentals of Beer and Hop Chemistry Denis. *Química Nova* **2000**, *23*, 108. [CrossRef]
- <sup>110</sup> Godtfredsen, S. E.; Ottesen, M. Maturation of beer with  $\alpha$ -acetolactate decarboxylase. *Carlsberg Research Communications* **1982**, *47*, 93. [CrossRef]
- <sup>111</sup> Instrução Normativa Nº 24 de 08 de setembro de 2005. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-24-de-8-de-setembro-de-2005.pdf/view>>. Acesso em: 10 janeiro 2019.
- <sup>112</sup> Manual Operacional de Bebidas e Vinagres. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/bebidas-e-vinagres-metodos-da-area-bev-iqa-1>>. Acesso em: 10 janeiro 2019
- <sup>113</sup> Dorval M. Coelho Neto, Cristina M. S. Sad, Betina P. Oliveira, Eustáquio V. R. Castro, Wanderson Romão, Paulo R. Filgueiras, V. L. J.; *Resumos do 19º Encontro Nacional de Química Analítica e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica*, Caldas Novas, Brasil, 2018. [Link]
- <sup>114</sup> Dorval M. Coelho Neto, Cristina M. S. Sad, Mayara Silva; Francine D. dos Santos, Láine B. Pereira, Rayane R. B. Corona, João F. P. Bassane, Eustáquio V. R. de Castro, Paulo R. Filgueiras, V. L. J.; *Resumos do VI Encontro Capixaba de Química - SBQ/ES*, Vitória, Brasil, 2017.
- <sup>115</sup> Hach DR6000 en la industria cervecera: Métodos importantes en conformidad con la MEBAK y la ASBC. Disponível em: <<https://www.hach.com/asset-get.download.jsa?id=50904526666>>. Acesso em: 15 março 2019.
- <sup>116</sup> European Brewery Convention. *Method 9.6 - Colour of Beer: Spectrophotometric Method*, Fachverlag Hans Carl: Bruxelas, 2010.
- <sup>117</sup> Moura-Nunes, N.; Cazaroti, T.; Dias, N.; Fernandes, P.; Aguiar, D.; Monteiro, M.; Perrone, D.; Guedes, A. Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles. *Food Chemistry* **2016**, *199*, 8146. [CrossRef]
- <sup>118</sup> Gerhäuser, C. Beer constituents as potential cancer chemopreventive agents. *European Journal of Cancer* **2005**, *41*, 1941. [CrossRef]
- <sup>119</sup> Sohrabvandi, S.; Mortazavian, A. M.; Rezaei, K. Health-Related Aspects of Beer: A Review. *International Journal of Food Properties* **2012**, *15*, 350. [CrossRef]



- <sup>120</sup> Thun, M. J.; Peto, R.; Lopez, A. D.; Monaco, J. H.; Henley, S. J.; Heath, C. W.; Doll, R. Alcohol Consumption and Mortality among Middle-Aged and Elderly U.S. Adults. *New England Journal of Medicine* **1997**, *337*, 1705. [CrossRef]
- <sup>121</sup> Doll, R.; Peto, R.; Hall, E.; Wheatley, K.; Gray, R. Mortality in relation to consumption of alcohol: 13 years' observations on male British doctors. *Bmj* **1994**, *309*, 911. [CrossRef]
- <sup>122</sup> Liu, Y.; Ma, T. J.; Chen, J. Changes of the Flavonoid and Phenolic Acid Content and Antioxidant Activity of Tartary Buckwheat Beer during the Fermentation. *Advanced Materials Research* **2013**, *781–784*, 1619. [CrossRef]
- <sup>123</sup> Rodrigues, K. L.; Araújo, T. H.; Schneedorf, J. M.; Ferreira, C. de S.; Moraes, G. de O. I.; Coimbra, R. S.; Rodrigues, M. R. A novel beer fermented by kefir enhances anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities found isolated in its constituents. *Journal of Functional Foods* **2016**, *21*, 58. [CrossRef]
- <sup>124</sup> Fumi, M. D.; Galli, R.; Lambri, M.; Donadini, G.; De Faveri, D. M. Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all-malt and maize adjunct lager beers. *Journal of Food Composition and Analysis* **2011**, *24*, 568. [CrossRef]
- <sup>125</sup> Murray, L. J.; Lane, A. J.; Harvey, I. M.; Donovan, J. L.; Nair, P.; Harvey, R. F. Inverse relationship between alcohol consumption and active *Helicobacter pylori* infection: The bristol *Helicobacter* project. *The American Journal of Gastroenterology* **2002**, *97*, 2750. [CrossRef]
- <sup>126</sup> Mukamal, K. J.; Kuller, L. H.; Fitzpatrick, A. L.; Longstreth, W. T.; Mittleman, M. A.; Siscovick, D. S. Prospective Study of Alcohol Consumption and Risk of Dementia in Older Adults. *Journal of the American Medical Association* **2003**, *289*, 1405. [CrossRef]
- <sup>127</sup> Innes, G. Cost-effectiveness of beer versus red wine for the prevention of symptomatic coronary artery disease. *Canadian Medical Association* **1998**, *159*, 1463. [PubMed]
- <sup>128</sup> Kondo, K. Beer and health: Preventive effects of beer components on lifestyle-related diseases. *BioFactors* **2008**, *22*, 303. [CrossRef]
- <sup>129</sup> Lacoste, L.; Hung, J.; Lam, J. Y. . Acute and delayed antithrombotic effects of alcohol in humans. *The American Journal of Cardiology* **2001**, *87*, 82. [CrossRef]
- <sup>130</sup> Sabia, S.; Fayosse, A.; Dumurgier, J.; Dugravot, A.; Akbaraly, T.; Britton, A.; Kivimäki, M.; Singh-Manoux, A. Alcohol consumption and risk of dementia: 23 year follow-up of Whitehall II cohort study. *BMJ* **2018**, *362*, k2927. [CrossRef]
- <sup>131</sup> Lewandowska, U.; Szewczyk, K.; Hrabec, E.; Janecka, A.; Gorlach, S. Overview of Metabolism and Bioavailability Enhancement of Polyphenols. *J. Agric. Food Chem.* **2013**, *61*, 12183. [CrossRef]
- <sup>132</sup> Morand, C.; Crespy, V.; Manach, C.; Besson, C.; Demigné, C.; Rémésy, C. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* **1998**, *275*, R212. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>133</sup> Nozawa, H.; Tazumi, K.; Sato, K.; Yoshida, A.; Takata, J.; Arimoto-Kobayashi, S.; Kondo, K. Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* **2004**, *559*, 177. [CrossRef]
- <sup>134</sup> Ayabe, T.; Ohya, R.; Taniguchi, Y.; Shindo, K.; Kondo, K.; Ano, Y. Matured Hop-Derived Bitter Components in Beer Improve Hippocampus-Dependent Memory Through Activation of the Vagus Nerve. *Scientific Reports* **2018**, *8*, 15372. [CrossRef]
- <sup>135</sup> Yilmazer, M.; Stevens, J. F.; Buhler, D. R. In vitro glucuronidation of xanthohumol, a flavonoid in hop and beer, by rat and human liver microsomes. *FEBS Letters* **2001**, *491*, 252. [CrossRef]
- <sup>136</sup> Henderson, M. C.; Miranda, C. L.; Stevens, J. F.; Deinzer, M. L.; Buhler, D. R. In vitro inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus*. *Xenobiotica* **2000**, *30*, 235. [CrossRef]
- <sup>137</sup> Colgate, E. C.; Miranda, C. L.; Stevens, J. F.; Bray, T. M.; Ho, E. Xanthohumol, a prenylflavonoid derived from hops induces apoptosis and inhibits NF-kappaB activation in prostate epithelial cells. *Cancer Letters* **2007**, *246*, 201. [CrossRef]
- <sup>138</sup> Yuan, Y.; Qiu, X.; Nikolić, D.; Chen, S.-N.; Huang, K.; Li, G.; Pauli, G. F.; van Breemen, R. B. Inhibition of human cytochrome P450 enzymes by hops (*Humulus lupulus*) and hop prenylphenols. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *53*, 55. [CrossRef]
- <sup>139</sup> Mizuno, A. Evaluation of Antioxidant Activity on Flavor Stability of Beer and Beer-Like Beverages. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **2013**, *71*, 131. [CrossRef]
- <sup>140</sup> Das, A. J.; Das, G.; Miyaji, T.; Deka, S. C. In Vitro Antioxidant Activities of Polyphenols Purified from Four Plant Species Used in Rice Beer Preparation in Assam India. *International Journal of Food Properties* **2016**, *19*, 636. [CrossRef]

- <sup>141</sup> Merinas-Amo, T.; Tasset-Cuevas, I.; Díaz-Carretero, A. M.; Alonso-Moraga, Á.; Calahorra, F. In vivo and in vitro studies of the role of lyophilised blond Lager beer and some bioactive components in the modulation of degenerative processes. *Journal of Functional Foods* **2016**, *27*, 274. [CrossRef]
- <sup>142</sup> Spreng, S.; Hofmann, T. Activity-Guided Identification of in Vitro Antioxidants in Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2018**, *66*, 720. [CrossRef]
- <sup>143</sup> Štulíková, K.; Karabín, M.; Nešpor, J.; Dostálek, P. Therapeutic perspectives of 8-prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops. *Molecules* **2018**, *3*, 23. [CrossRef]
- <sup>144</sup> Mateo-Gallego, R.; Pérez-Calahorra, S.; Lamiquiz-Moneo, I.; Marco-Benedí, V.; Bea, A. M.; Fumanal, A. J.; Prieto-Martín, A.; Laclaustra, M.; Cenarro, A.; Civeira, F. Effect of an alcohol-free beer enriched with isomaltulose and a resistant dextrin on insulin resistance in diabetic patients with overweight or obesity. *Clinical Nutrition* **2019**, *1*. [CrossRef]
- <sup>145</sup> WANG, Q.; DING, Z.; LIU, J.; ZHENG, Y. Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from Hops. *Antiviral Research* **2004**, *64*, 189. [CrossRef]
- <sup>146</sup> Blanco, C. A.; Rojas, A.; Nimubona, D. Effects of acidity and molecular size on bacteriostatic properties of beer hop derivatives. *Trends in Food Science and Technology* **2007**, *18*, 144. [CrossRef]
- <sup>147</sup> Simpson, W. J.; Fernandez, J. L. Mechanism of Resistance of Lactic Acid Bacteria to Trans-Isohumulone. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* **1994**, *52*, 9. [CrossRef]
- <sup>148</sup> Simpson, W. J.; Smith, A. R. W. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives. *Journal of Applied Microbiology* **1992**, *72*, 327. [CrossRef]
- <sup>149</sup> Chen, Y. Bin; Wang, Y. F.; Hou, W.; Wang, Y. P.; Xiao, S. Y.; Fu, Y. Y.; Wang, J.; Zheng, S. W.; Zheng, P. H. Effect of B-complex vitamins on the antifatigue activity and bioavailability of ginsenoside Re after oral administration. *Journal of Ginseng Research* **2017**, *41*, 209. [CrossRef]
- <sup>150</sup> Sun, M. G.; Huang, Y.; Xu, Y. H.; Cao, Y. X. Efficacy of vitamin B complex as an adjuvant therapy for the treatment of complicated vulvovaginal candidiasis: An in vivo and in vitro study. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2017**, *88*, 770. [CrossRef]
- <sup>151</sup> Elbarbary, N. S.; Ismail, E. A. R.; Zaki, M. A.; Darwish, Y. W.; Ibrahim, M. Z.; El-Hamamsy, M. Vitamin B complex supplementation as a homocysteine-lowering therapy for early stage diabetic nephropathy in pediatric patients with type 1 diabetes: A randomized controlled trial. *Clinical Nutrition* **2019**, *1*. [CrossRef]
- <sup>152</sup> Moore, K.; Hughes, C. F.; Hoey, L.; Ward, M.; Cunningham, C.; Molloy, A. M.; Strain, J. J.; McCarroll, K.; Casey, M. C.; Tracey, F.; Laird, E.; O’Kane, M.; McNulty, H. B-vitamins in Relation to Depression in Older Adults Over 60 Years of Age: The Trinity Ulster Department of Agriculture (TUDA) Cohort Study. *Journal of the American Medical Directors Association* **2019**, *20*, 551. [CrossRef]
- <sup>153</sup> Danezis, G. P.; Tsagkaris, A. S.; Camin, F.; Brusica, V.; Georgiou, C. A. Food authentication: Techniques, trends & emerging approaches. *Trends in Analytical Chemistry* **2016**, *85*, 123. [CrossRef]
- <sup>154</sup> Wu, L.; Du, B.; Vander Heyden, Y.; Chen, L.; Zhao, L.; Wang, M.; Xue, X. Recent advancements in detecting sugar-based adulterants in honey – A challenge. *Trends in Analytical Chemistry* **2017**, *86*, 25. [CrossRef]