

ELABORAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL COM ADIÇÃO DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon citratus*) E CASCA DE LARANJA (*Citrus sinensis*) DE ORIGEM AGROECOLÓGICA

Jaqueline da Silva Coelho Moreira, Andreia Assunção Soares, Isabel Cristina da Silva Caetano, Fabíola Dorneles Inácio e Mariana Martins Zanelatto

RESUMO: Considerada uma das bebidas alcoólicas mais antigas do mundo, a cerveja está entre uma das mais significativas atividades produtivas da atualidade. Esse mercado tem buscado produtos diferenciados daqueles produzidos em grande escala, como as cervejas adicionadas de frutas, ervas e especiarias. Este estudo teve como objetivo analisar a qualidade microbiológica, físico-químicas e as propriedades antioxidantes de uma cerveja artesanal com a adição de casca de laranja e capim limão, ambos de origem agroecológica. Foram produzidos 20 litros de cerveja do estilo Blond Ale, dos quais duas formulações foram separadas na etapa da fervura: a) sem adição de produtos agroecológicos (controle) e b) com a adição capim limão e casca de laranja. O mosto foi fervido por 1 hora, momento no qual ocorreu a lupulagem e a adição do capim limão 5 g nos 5 minutos finais da fervura) e casca de laranja 12,5 g nos 5 minutos finais da fervura). A cerveja foi fermentada à 18°C por 7 dias, seguida por etapa de clarificação a 0°C por 15 dias. Após isso, a cerveja foi engarrafada usando 5g por litro de cerveja. Amostras da cerveja pronta foram utilizadas para as análises microbiológicas de contagem total de bolores e leveduras pela técnica em profundidade. As propriedades antioxidantes da cerveja foram analisadas seguindo o método de Folin Ciocalteu ensaio DPPH e ensaio FRAP. Foram analisados também o pH, teor de acidez, cor (EBC), extrato real e teor alcoólico das cervejas prontas. Os resultados microbiológicos revelaram a ausência de bolores e a presença de leveduras. A formulação com adição dos produtos agroecológicos teve um conteúdo de compostos fenólicos totais de aproximadamente 4,8 vezes maior do que a formulação controle. A atividade antioxidante pelo ensaio de FRAP foi significativamente maior na formulação com adição quando comparada à formulação controle. A atividade antioxidante está relacionada proporcionalmente ao conteúdo de compostos fenólicos da cerveja, pois os compostos fenólicos têm a capacidade de reagirem com a molécula do radical estável DPPH, e quanto maior este potencial, menor é o valor de EC 50. Nesta análise, as cervejas com adição de capim limão e casca de laranja apresentaram um valor menor de EC 50 demonstrando uma maior atividade antioxidante quando comparada à amostra controle. Ambas as formulações apresentaram pH de 4,2 e acidez total de 29 Meq/L. A adição dos produtos agroecológicos produziu uma cerveja levemente mais intensa na cor, contudo ambas as formulações foram classificadas como cervejas claras (EBC<20).

Palavras-chave: Capim limão, cerveja, microbiologia, antioxidantes

INTRODUÇÃO

A cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais antigas e mais frequentemente consumidas ao redor do mundo (KAWA-RYGIELSKA et al., 2019). Conhecida como “pão líquido”, devido ao seu valor nutricional semelhante e à utilização dos mesmos ingredientes (grãos de cereais, água e fermento) do pão, a cerveja acompanha a história da humanidade há pelo menos 6.000 a.C. Escavações arqueológicas descobriram resquícios de bebida fermentada a partir de cereais que datam de 5.000 a.C. Outros indícios mostram registros de aproximadamente 4.000 a.C. com símbolos da cerveja como moeda de troca na Mesopotâmia e Egito (MORADO, 2017).

Quando consumida com moderação, a cerveja se apresenta como uma boa fonte de compostos bioativos com efeito positivo na saúde humana, como os compostos antioxidantes. Estes compostos removem radicais livres e espécies reativas de oxigênio que causam danos celulares, os quais podem levar a doenças degenerativas, cardiovasculares e câncer. Na cerveja, compostos com atividade antioxidante são liberados do malte e do lúpulo no processo de produção (JURKOVÁ et al., 2012).

Embora milenar, a produção de cerveja está entre uma das mais significativas atividades produtivas da atualidade. No Brasil, a indústria cervejeira, juntamente com a de refrigerantes, representa 82% do volume de bebidas produzidas (JUNIOR et al., 2014), o que demonstra a importância econômica da cerveja no país.

Devido à busca por produtos diferenciados daqueles produzidos em grande escala, o mercado de cervejas mantém crescimento em ritmo acelerado. Segundo o MAPA, em dez anos (2008-2018), o Brasil demonstrou uma expressiva tendência de crescimento do mercado de cervejas artesanais, demonstrado pelo aumento de 23% no número de cervejarias.

O crescimento acentuado do mercado de cervejas artesanais tem estimulado o desenvolvimento de produtos diferenciados, com a adição de frutas, ervas e especiarias. A criatividade e inovação na produção de cervejas apresenta-se com o objetivo não somente de produzir bebidas com aromas e sabores diferenciados, mas também agregar valor aos produtos utilizados.

Uma das alternativas para criar novas formulações de cervejas artesanais consiste em elaborar bebidas com a adição de produtos agroecológicos. Tais produtos são definidos como alimentos produzidos em sistemas que utilizam de forma sustentável os recursos naturais, livres de contaminantes, que preservam a biodiversidade e contribuem para a criação de trabalho, respeitando os saberes e as formas de produção tradicionais (BRASIL, 2014). Nesse cenário, o Paraná tem ocupado posição de destaque, com grande parte de sua economia pautada na agricultura familiar e sustentável.

METODOLOGIA

Elaboração da receita

As formulações das cervejas foram realizadas em software BeerSmith®. Ao todo, foram produzidos 20 litros de cerveja estilo Blond Ale, os quais foram divididos, na etapa de fervura, em duas porções de 10 litros de mosto para o desenvolvimento de duas formulações de cerveja, sendo uma das formulações sem adição de produtos agroecológicos (controle), e a outra com a adição desses produtos, sendo eles, folhas de capim limão e raspas de casca de laranja.

Os maltes utilizados para a fabricação da cerveja foram de cevada e de trigo, o lúpulo escolhido foi o Hallertau Magnum e Nugget. A fermentação foi realizada com fermento Ale Fermentis SafeAle US-05. Foi utilizada água mineral observado o valor de pH na faixa de 4 e 9 (AQUARONE, 2001). Os produtos (capim limão e casca de laranja) foram adquiridos de propriedades em conversão agroecológica da região do Vale do Ivaí-PR. O capim limão foi adquirido do Sítio Recanto Feliz, localizado no assentamento 08 de abril (Jardim Alegre-PR). A laranja pêra foi adquirida da propriedade de Celito de Souza, assentamento 08 de abril, Jardim Alegre/PR. Ambos os produtos foram previamente higienizados com água corrente, sendo a casca da laranja ralada para se obter somente a parte externa e excluir sua parte branca. As folhas do capim limão foram cortadas em partes menores para facilitar a infusão. A casca de laranja (12,5 g) e o capim limão (5 g) foram adicionados nos 5 minutos finais da fase de fervura em 10 litros de mosto. A cerveja foi fermentada à 18°C por 7 dias, seguida por etapa de clarificação a 0°C por 15 dias. Após isso, a cerveja foi engarrafa usando 5g por litro de cerveja.

Análises físico-químicas

Todas as determinações foram realizadas na amostra descarbonatada. O teor alcoólico foi mensurado com o auxílio de um densímetro e a tabela de conversão da densidade conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Duas medições foram realizadas, sendo a Densidade Original (OG) e a final (FG). O resultado foi expresso em porcentagem de álcool por volume (ABV), como abaixo:

$$ABV = OG - FG * 131$$

As análises de pH foram realizadas em potenciômetro com as amostras a 20°C. A acidez foi realizada por volumetria de neutralização (IAL, 2008). A colorimetria por meio de leitura da absorbância espectrofotométrica (A) em 430 nm, utilizando-se o fator de conversão de 25. A cor será calculada de acordo com a equação abaixo e expressa em EBC, seguindo o método European Brewery Convention (1987):

$$\text{Cor (EBC)} = A \times 25$$

O extrato real da cerveja foi determinado de acordo com metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008),

Análise Microbiológica de bolores e leveduras

Foi realizada utilizando-se a técnica em profundidade, onde uma alíquota de 1 ml de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6}) foi transferida para placas de Petri vazias e estéreis, em duplicata. O meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) na temperatura de 50-55°C foi vertido nas placas e após solidificação as placas foram incubadas à 25°C por 5 dias. Considerando o limite mínimo de 25 e máximo de 250 UFC, as diluições selecionadas foram de 10^{-3} e 10^{-4} (SILVA et al., 2017).

Análises de antioxidantes

O conteúdo de compostos fenólicos totais nas cervejas foi determinado em alíquotas de 1 ml seguindo o método de Folin-Ciocalteu's (SINGLETON; ROSSI, 1965), usando ácido gálico como referência. Para a determinação da atividade antioxidante foram realizados dois métodos: ensaio DPPH, que avalia o sequestro dos radicais livres em curto período (THAIPONG et al., 2006) e ensaio FRAP (Poder de Redução do Íon Ferro) seguindo o método proposto por Pulido et al. (2000) e Benzie & Strain (1996). Os

resultados do ensaio DPPH foram expressos como EC50 (menor concentração da amostra que expressa 50% de atividade antioxidante).

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão representados os resultados das análises físico-químicas realizadas nas amostras. O pH nas duas formulações se mostrou em torno de 4,2, representando uma cerveja ácida. O extrato real, resultante de sólidos inseridos na composição da cerveja, varia conforme a taxa de evaporação da água durante o processo produtivo. Segundo trabalhos já realizados, os valores de extrato real devem estar entre 2,0 e 7,0%, sendo os valores acima de 3,0% determinam uma cerveja de boa qualidade (ALMEIDA; BELO, 2017).

Não foram observadas diferenças entre a porcentagem de álcool por volume das formulações, bem como na colorimetria. Quanto à cor, é utilizada a escala de unidades EBC (European Brewery Convention) como padrão, a qual determina que cervejas com valores inferiores a 20 unidades EBC são denominadas cervejas claras e, superiores a 20 unidades EBC são consideradas cervejas escuras. Neste estudo, as duas formulações apresentaram valores inferiores a 20 unidades EBC, sendo classificadas cervejas claras.

Tabela 1 - Análises físico-químicas de cervejas com adição de produtos agroecológicos (capim limão e casca de laranja) e sem adição (controle).

Amostra	Parâmetros				
	pH	Acidez total	Extrato real	ABV	EBC
Controle	4,27	29 Meq/L	6,89 ± 0,12 % m/v	5,12 %	11,7

	4,28	30 Meq/L	6,37± 0,31 % m/v	5,29%	12,4
Cerveja + produtos agroecológicos					

Fonte: as autoras.

Os resultados microbiológicos revelaram a ausência de bolores e a presença de leveduras, resultados considerados dentro do padrão, visto que as cervejas neste projeto não foram pasteurizadas e sofreram refermentação na garrafa, o que aumenta a população de leveduras. A cerveja controle apresentou um valor de $7,35 \times 10^5$ UFC/ml para leveduras, enquanto que a cerveja adicionada dos produtos agroecológicos apresentou $7,35 \times 10^4$ UFC/ml. Matsubara e Plath (2014) obtiveram valores semelhantes para a análise de leveduras em cervejas não pasteurizadas adicionadas de gengibre. Em outro estudo com cerveja artesanal adicionada de manga, os resultados para fungos filamentosos e não filamentosos foram menores, atingindo o máximo de 67 UFC/ml, devido ao processo de pasteurização realizado (SILVA, 2020).

A cerveja com adição de compostos agroecológicos teve um conteúdo de compostos fenólicos totais maior do que a cerveja sem adição (Tabela 2). Neste estudo, os produtos agroecológicos foram adicionados nos 5 minutos finais da fase fervura do mosto, contribuindo para um aumento de aproximadamente 4,8 vezes na concentração de fenólicos totais na cerveja pronta. Nesse método, durante a fervura, os compostos fenólicos do capim limão e da casca de laranja podem ter sido transferidos para o mosto cervejeiro. Guglielmotti et al. (2020), aplicando folhas de oliveira na fase de fervura, observaram que a adição das folhas aumentou o conteúdo de fenólicos totais na cerveja, sendo a extração desses compostos favorecida pelo tempo de fervura e calor.

Os valores apresentados no presente trabalho, para ambas as formulações, foram superiores aos observados em cervejas adicionadas de seriguela e casca de laranja (SILVA, 2018), e em cervejas adicionadas de manga espada (SILVA, 2020). Os valores para o conteúdo de compostos fenólicos totais estão próximos aos valores obtidos em cervejas adicionadas de polpa de amora, onde observou-se um aumento no conteúdo de compostos fenólicos da cerveja proporcional à concentração de polpa adicionada (TRINDADE, 2016).

Compostos fenólicos são substâncias com reconhecida capacidade antioxidante, uma vez que atenuam o estresse oxidativo que surgem da ação de radicais livres. As

cervejas como um todo são consideradas boas fontes de compostos fenólicos. Em torno de 70-80% destes compostos são derivados do malte, sendo o restante (20-30%) derivado dos lúpulos (GERHÄUSER; BECKER, 2008). A presença desses compostos na cerveja é importante para a sua conservação, uma vez que podem impedir a degradação oxidativa, minimizando o surgimento de “off-flavors” (COLLIN et al., 2013). O consumo moderado de cerveja apresenta benefícios para a saúde, muitos dos quais são atribuídos aos compostos antioxidantes encontrados na bebida (MARTINEZ-GOMEZ et al., 2020).

Tabela 2. Média ± Erro Padrão das Concentrações dos Compostos Fenólicos Totais. (AG). Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem pelo Teste T para amostras independentes ao nível de significância de 5 %.

Parâmetro	Controle	Cerveja + produtos agroecológicos
Compostos Fenólicos Totais (µg eq. AG/ mL extrato)	1190,83 ± 0,15 a	5639,40 ± 4.50 b

Fonte: as autoras.

Segundo Silva (2018) a atividade antioxidante está relacionada proporcionalmente ao conteúdo de compostos fenólicos da cerveja. Isso ocorre pelo fato dos compostos fenólicos terem a capacidade de reagirem com a molécula do radical estável DPPH, e quanto maior este potencial, menor é o valor de EC50. Como observado na tabela 3, as cervejas com adição de capim limão e casca de laranja apresentaram um valor menor de EC50, demonstrando uma maior atividade antioxidante quando comparada à amostra controle.

O ensaio de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) se baseia na capacidade das moléculas antioxidantes reduzirem o íon férrico (Fe³⁺), para o estado ferroso (Fe²⁺) (SRATIL et al., 2006). A atividade antioxidante foi significativamente maior na cerveja com adição (35,90 nmols eq. Trolox/mL) quando comparada à cerveja sem adição de capim limão e casca de laranja (20,36 nmols eq. Trolox/mL) (tabela 4).

As comparações de dos resultados de atividade antioxidante com com dados de outros estudos reportados na literatura é frequentemente problemática, uma vez que observa-se diversas formas de análises e de expressão dos resultados (SILVA, 2020). Contudo, os resultados obtidos nesse estudo de aumento da atividade antioxidante nas cervejas especiais são consistentes com a maioria de outros estudos reportados na

literatura. Ducruet et al. (2017) obtiveram aumentos significativos na atividade antioxidante de cervejas enriquecidas com goji berries, o que também foi observado em cervejas adicionadas de polpa de manga espada (Silva, 2020). Nardinia e Garaguso (2020), analisaram cervejas adicionadas de frutas frescas comercializadas na Itália e observaram maiores atividades antioxidantes quando comparadas às cervejas convencionais, sem adição de frutas. Além disso, a cerveja adicionada de casca de laranja, quando comparada às outras cervejas adicionadas de frutas, apresentou conteúdos de polifenóis totais e atividade antioxidante consideravelmente superiores, o que provavelmente está relacionado com o uso da casca, rica em antioxidantes (NARDINIA; GARAGUSO, 2020).

Tabela 3: EC₅₀ – Atividade Antioxidante (DPPH) e Capacidade Antioxidante Total - FRAP. Os dados expressam média ± EPM (n = 2). Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem pelo Teste T para amostras independentes ao nível de significância de 5 %.

Parâmetro	Controle	Cerveja + produtos agroecológicos
EC ₅₀ DPPH (mg/mL)	0,191 ± 0,80 a	0,061 ± 0,13 b
FRAP (nmols eq. Trolox/mL cerveja)	20,36 ± 0,16 a	35,90 ± 2,32 b

Fonte: as autoras.

Tabela 4: Capacidade Antioxidante Total - FRAP. Os dados expressam média ± EPM (n = 4). Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem pelo Teste T para amostras independentes ao nível de significância de 5 %.

Parâmetro	Controle	Cerveja + produtos agroecológicos
FRAP (nmols eq. Trolox/mL cerveja)	20,36 ± 0,16 a	35,90 ± 2,32 b

Fonte: as autoras.

CONCLUSÃO

A casca de laranja e o capim limão são compostos apropriados para a produção de cervejas especiais dentro dos padrões e com forte capacidade antioxidante. Tais produtos oriundos de sistemas de produção agroecológicos, quando utilizados para a formulação de cervejas, agregam valor a si mesmos e aos produtos finais, além de proporcionarem uma cerveja de alta qualidade, uma vez que são isentos de químicos, como agrotóxicos e

fertilizantes, os quais poderiam ser transferidos para a cerveja final. Assim, esse estudo mostrou uma alternativa para a elaboração de cervejas artesanais diferenciadas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. S. de. & BELO, R. F. C. Análise físico-química de cervejas artesanais e industriais comercializadas em Sete Lagoas, MG. Faculdade Ciências da Vida. FCV. 2017. Disponível em: jornal.faculdadecienciasdavid.com.br/index.php/RBCV/article/download/362/232. Acesso em: fevereiro de 2020.

AQUARONE, E. B.I. W. *et al.* Biotecnologia Industrial, Volume 4, Biotecnologia na Produção de Alimentos, 1a ed., São Paulo, Ed. Edgard Blücher, 523 páginas, 2001.

BENZIE, F. & STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, 15; 239(1):70-6, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia alimentar para a população brasileira. Brasília: Ministério da Saúde; 2014.

COLLIN, S. *et al.* Polyphenols and Beer Quality. In: Ramawat K., Mérillon JM. (eds) *Natural Products*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2013.

DUCRUET, J. *et al.* Amber ale beer enriched with goji berries – The effect on bioactive compound content and sensorial properties. *Food Chemistry*, 226, 109–118, 2017.

EBC – European Brewery Convention. *Analytica – EBC*. 4. ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 1987.

GERHAUSER, C. & BECKER, H. Phenolic Compounds in Beer. In *Beer in Health and Disease Prevention*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2008; Chapter 12; ISBN 9780080453521.

GUGLIELMOTTI, M. *et al.* Use of olive (*Olea europaea* L.) leaves as beer ingredient, and their influence on beer chemical composition and antioxidant activity. *Journal of Food Science*, 2020.

IAL. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ª edição, 1020 páginas, 2008.

JÚNIOR OC. *et al.* Setor de bebidas no Brasil. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 40, p. 93-130. BNDES, set. 2014.

JURKOVÁ M *et al.* Control of antioxidant beer activity by the mashing process. Journal of the Institute of Brewing and Distilling. 118, 230-235, 2012.

KAWA-RYGIELSKA J. *et al.* Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. Food Chemistry 281, 147–153, 2019.

MATSUBARA, A. K.; PLATH, A. R. Desenvolvimento de Cerveja Artesanal de Trigo adicionada de Gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*). 2014. 51f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.

MARTINEZ-GOMEZ, A. *et al.* Phenols and Melanoidins as Natural Antioxidants in Beer. Structure, Reactivity and Antioxidant Activity. Biomolecules, 10(3), 400, 2020.

MORADO, R. Larousse da Cerveja: a História e as Curiosidades de Uma das Bebidas Mais Populares do Mundo. São Paulo, Editora Alaúde; 1ª edição, 2017.

NARDINIA, M. & GARAGUSO, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. Food Chemistry 305, 2020.

PULIDO, R. & BRAVO, L. Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols as Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. J. Agric. Food Chem. 48, 8, 3396–3402, 2000.

SILVA, A. A. da. Produção, caracterização físico-química e análise sensorial de cerveja artesanal de trigo adicionada de polpa e casca de seriguela (*Spondias purpurea* L.) e casca de laranja (*Citrus sinensis* L.). / Aline Almeida da Silva. – 2018.

SILVA, M. J. S. Produção de cerveja artesanal tipo weiss adicionada de manga cv. espada. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2020.

SILVA, N. *et al.* Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água / Neusely da Silva... (et al). 5ª ed. – São Paulo: Blucher, 2017.

SINGLETON, V. L. & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, p.144-158, 1965.

STRATIL, P. *et al.* Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables Evaluation of Spectrophotometric Methods. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, v.54, p.607-616, 2006.

THAIPONG, K. *et al.* Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 2006.

TRINDADE, S. C. AMORA INCORPORATION IN CRAFT BEER ELABORATION. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.