

CARACTERIZAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES EM CERVEJAS TIPO *PILSEN* SUPLEMENTADAS COM POLPA DE MARACUJÁ

AMANDA CRISTINA ALFREDO CONTRUCCI SORBO¹, FERNANDO BROETTO²

¹ Universidade Estadual Paulista (Unesp), Departamento de Química e Bioquímica (IBB), Instituto de Biociências, Botucatu, Distrito de Rubião Junior, s/n, Rubião Junior, CEP 18618000, Botucatu, SP, Brasil, amandasorbo@gmail.com.

² Universidade Estadual Paulista (Unesp), Departamento de Química e Bioquímica (IBB), Instituto de Biociências, Botucatu, Distrito de Rubião Junior, s/n, Rubião Junior, CEP 18618000, Botucatu, SP, Brasil, broetto@ibb.unesp.br.

RESUMO: A cerveja apresenta compostos bioativos que promovem benefícios ao organismo humano, desde que ingerida com moderação. Com o crescimento no consumo de cervejas artesanais nos últimos anos, o desenvolvimento de novos produtos, é um nicho em ascensão. Este trabalho teve como objetivo identificar possível associação dos efeitos funcionais da cerveja *Pilsen* ao potencial antioxidativo da polpa de maracujá. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo o controle, o Tratamento 1 (T1) representado pela cerveja *Pilsen*, produzida artesanalmente. Nos demais tratamentos, as cervejas foram suplementadas com polpa de maracujá em três concentrações, durante o processo de refermentação (*priming*). Para o tratamento 2 (T2), a cerveja foi suplementada com polpa integral de maracujá (120 mL); Para os tratamentos T3 e T4, a suplementação com polpa foi da ordem de 50 e 25 % da polpa diluída, respectivamente. Todos os tratamentos foram repetidos três vezes, em brasagens independentes. Os resultados obtidos da capacidade antioxidante foram de 23,1879 à 19,2250; e dos compostos fenólicos foram de 1,1379 à 0,8813, observados entre os tratamentos. Os resultados observados nas diferentes concentrações de polpa de maracujá, demonstraram um potencial favorável de compostos fenólicos.

Palavras-chaves: bioativos, *priming*, maracujá, alcoólica

CHARACTERIZATION OF ANTIOXIDANTS IN PILSEN BEERS SUPPLEMENTED WITH PASSION FRUIT PULP

ABSTRACT: Beer presents bioactive components that promote benefits to the human body, once ingested in moderation. With the growth of craft beer consumption in recent years, the development of new products is a growing niche. This work aimed to identify possible association of Pilsen beer functional effects to the potential passion fruit pulp antioxidant. The experimental design was completely randomized, using as control the Treatment 1 (T1), represented by Pilsen beer handmade produced. In the other treatments the beers were supplemented with passion fruit pulp in three concentrations during priming process. Treatment 2 (T2), beer was supplemented with whole passion fruit pulp (120 mL); treatments T3 and T4, the supplementation with pulp was the order of 50 and 25% of the diluted pulp, respectively. The results obtained from the antioxidant capacity were from 23.1879 to 19.2250; and the phenolic compounds were from 1.1379 to 0.8813, observed among the treatments. The results observed in the different formulations of artisanal fruity beers showed a favorable potential of bioactive compounds.

Keywords: bioactive, *priming*, passion fruit, alcoholic.

1 INTRODUÇÃO

A cerveja, provavelmente, foi descoberta por acaso, em função da fermentação espontânea da mistura de cereais e posterior degustação (LIMA; MOTA, 2003).

Nos mosteiros existentes na época medieval, produziam cerveja a base de água e malte. A bebida foi chamada de “pão líquido” devido os estágios de produção serem semelhantes aos da produção de pães (AQUARONE et al., 2001).

Com isso, a cerveja, produto tradicionalmente aceito e em evidência por milhares de anos, por definição é uma bebida não destilada, carbonatada e de baixo teor alcoólico, preparada a partir da fermentação de cereais malteados, sendo o mais comum a cevada, lúpulo e água de boa qualidade (ALMEIDA; SILVA, 2005).

Estima-se que atualmente haja mais de 20 mil diferentes formulações de cervejas. Essa grande variedade é obtida a partir de mudanças no processo de fabricação da bebida, envolvendo variáveis como: o tempo e temperatura nas etapas de mosturação, fermentação, maturação e o uso de ingredientes diferenciados como trigo, milho, centeio, arroz, mel, mandioca, frutas e outros (SOARES, 2011).

Assim como o vinho, as cervejas têm importância nutricional e fisiológica (BRUNELLI, 2012). Elas contêm, em sua composição química, substâncias benéficas à saúde como antioxidantes e vitaminas, em especial a do complexo B (niacina, riboflavina, piridoxina e os folatos), presentes nos cereais malteados (KUNZE, 2006; TRINDADE, 2016).

A bebida também apresenta compostos fenólicos, em especial os antocianógenos, que são substâncias de baixo peso molecular e que tem efeito bactericida, estimula atividade cardíaca e contribuem com a absorção de ferro e magnésio. Esses compostos possuem ainda um forte poder de redução e impedem alguns processos oxidativos do metabolismo (FAGRELL et al., 1999, KUNZE, 2006).

A adição de frutas tropicais como adjunto cervejeiro pode fornecer um produto inovador e elas também são uma alternativa em fonte de açúcares para as leveduras realizarem a fermentação alcoólica. Além dos adjuntos vegetais como frutas vermelhas e amarelas, podem agregar mais ao processo, contribuem para o aumento dos compostos fenólicos (D'AVILA et al., 2012).

O maracujá amarelo, conhecido como maracujá azedo, (*Passiflora edulis*) devido ao seu aroma agradável e sabor característico, é muito apreciado pelos brasileiros e considerado um fruto tropical de sabor exótico. Além disso, o fruto é composto por importantes moléculas

bioativas, sendo uma boa fonte de provitamina A, niacina, riboflavina, ácido ascórbico (VERAS; PINTO; MENESES, 2000; TUPINAMBÁ, 2008; CAMPOS et al., 2013), substâncias polifenólicas (ZERAİK et al., 2010), ácidos graxos poli-insaturados (KOBORI; JORGE, 2005) e fibras (CÓRDOVA et al., 2005), entre outras classes de substâncias.

Na cerveja, o maracujá pode promover doçura residual e um leve aroma e sabor exóticos, característicos do fruto. Para a incorporação desse adjunto, recomenda-se que a cerveja seja pouco “lupulada” e mais forte, com 13 a 15 °Brix no extrato primitivo, com a finalidade de aumentar o caráter vinoso à cerveja, por meio do maior teor de álcool e ésteres (KUNZE, 2006). O objetivo desse trabalho foi avaliar as propriedades da cerveja artesanal tipo *Pilsen* suplementada com polpa de maracujá em diferentes concentrações.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Processamento da cerveja artesanal *Pilsen*

A cerveja tipo *Pilsen* foi produzida no Departamento de Química e Bioquímica no Instituto de Biociências, Campus Botucatu/SP, em junho de 2016. A bebida foi preparada de forma artesanal, com o auxílio de duas painéis de alumínio, sendo uma para a fervura e outra para a mosturação. Utilizou-se uma serpentina para troca de calor e o mosto foi bombeado entre as duas painéis (recirculação). Além disso, a panela cervejeira foi equipada com filtro de cobre, instalado no fundo da panela e conectado a torneira para auxiliar na recirculação.

2.2 Matéria-prima

Água potável; Malte próprio para cerveja (Cervejando, de Porto Seguro/BA); inóculo (levedura de baixa fermentação, *Saccharomyces cerevisiae*); Sacarose invertida; lúpulo de amargor (Lúpulo Hallertau Magnum®); lúpulo aromático (Lúpulo Aromático Hallertau Tradition®) e polpa de maracujá.

2.3 Material utilizado

Geladeira doméstica adaptada com termostato; termômetro, panelas, panelas com serpentinas de cobre, fogão e baldes atóxicos (tipo alimentar).

2.4 Planejamento experimental

O delineamento experimental da produção de cerveja foi definido a partir da adição de polpa de maracujá na fase de refermentação (*priming*). A polpa foi diluída em três concentrações diferentes, sendo 100 % constituído pela polpa integral (120 mL), 50 % de polpa na proporção 1:1 (60 mL de polpa: 60 mL de água) e 25 % de polpa na proporção 1:3 (30 mL de polpa e 90mL de água). As cervejas foram divididas em quatro tratamentos e produzidas em três lotes (repetições), totalizando 12 parcelas experimentais conforme (Tabela 1).

Tabela 1. Formulação das cervejas artesanais suplementadas com polpa de maracujá.

Cerveja Artesanal	Volume do Mosto (L)	Volume da polpa De maracujá (L)	Volume de Água (L)	Volume Final (L)
T1 (Controle)	5,00	0	0	5
T2 (100%)	4,88	0,12	0	5
T3 (50%)	4,88	0,06	0,06	5
T4 (25%)	4,88	0,03	0,09	5

2.5 Análises Bioquímicas

2.5.1 Compostos fenólicos

Em tubo de ensaio, foram colocados 0,3 mL de extrato aquoso (1 mL da cerveja centrifugada com 10mL de acetona 50 %), 0,7 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteau. Após 5 minutos, adicionou-se 2,5 mL de carbonato de sódio a 20 %. Os tubos ficaram em repouso por 1 hora, na ausência de luz, para posterior leitura em espectrofotômetro a 725 nm. O ácido gálico foi utilizado como padrão (WETTASINGHE; SHAHIDI, 1999), sendo o resultado expresso em equivalente grama de ácido gálico (EAG 100mL⁻¹ de amostra).

2.5.2 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método do DPPH, o qual baseou-se na capacidade de compostos fenólicos em sequestrar o radical DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) em solução. Uma alíquota 0,5 mL da cerveja foi adicionada a 3mL de etanol 100% e 300 µL de solução DPPH (0,5 mM em etanol). A medida da absorbância foi a 517 nm

(BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995). O resultado foi expresso em µmoles equivalentes de trolox por 100 g de amostra (TEAC 100 g⁻¹).

2.6 Análise estatística

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos a análise de variância e as medias comparadas por teste de Tukey (95% de probabilidade).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As capacidades antioxidantes da cerveja suplementada com polpa de maracujá estão descritas conforme (Tabela 2). No T2 (100%) de polpa de maracujá, o valor observado foi de (23,2) de atividade antioxidante, sendo maior que no T3 e T4, onde os valores foram de (20,9 e 19,3) respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. As variações observadas entre os tratamentos, deve-se às formulações, sendo que no tratamento com 100% de polpa de maracujá (T2), a quantidade de atividade antioxidante foi superior aos demais tratamentos, ou seja, à medida que

houve uma diminuição na quantidade da polpa do fruto nas formulações, conseqüentemente, ocorreu uma diminuição da capacidade antioxidante da cerveja.

Segundo a literatura, em relação aos benefícios à saúde pelo consumo da cerveja, estes são atribuídos pela presença de agentes antioxidantes que reagem com os radicais livres no organismo e contribuem para que estes radicais não reajam com o DNA, RNA,

proteínas ou quaisquer outras substâncias oxidáveis, podendo evitar o aparecimento de doenças degenerativas ou até mesmo o envelhecimento (MACIEL; ELÓI; JORDÃO, 2013, p. 41). Estes compostos neutralizam, sequestram radicais livres ou atuam como agentes quelantes de metais de transição sendo essa característica relacionada ao poder redutor do grupamento hidroxila (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT, 2009, p. 231).

Tabela 2. Capacidade antioxidante e compostos fenólicos presentes na cerveja tipo Pilsen artesanal frutada.

Parâmetros	Controle	100%	50%	25%
DPPH (EAG 100 mL ⁻¹)	17,0416 c	23,1879 a	20,8109 b	19,2250 b
Fenóis (TEAC 100 g ⁻¹)	0,7491 d	1,1379 a	1,0070 b	0,8813 c

Conforme observado na (Tabela 2), o valor obtido dos compostos fenólicos, no T2 (100% de polpa de maracujá), foi de (1,13), enquanto que no T3 e T4, os valores foram inferiores, com teores de (1,01 e 0,88) respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. Analisando os outros tratamentos, constatou-se que, a medida que diminuiu a quantidade de polpa do maracujá nas formulações, conseqüentemente, diminuiu o teor de compostos fenólicos na cerveja.

Com isso, a adição da polpa concentrada de maracujá promoveu o incremento na capacidade antioxidante da bebida, em função do aumento dos compostos fenólicos totais presentes na mesma. O maracujá, assim como uma grande diversidade frutas e vegetais, possui em sua composição fontes de compostos fenólicos. Malacrida e Jorge (2012) demonstraram que o maracujá amarelo apresenta um alto teor de compostos fenólicos, constituindo uma boa fonte de antioxidantes. Esses compostos fenólicos com ação antioxidante atuam em diversas vias do metabolismo: inibindo radicais livres, agindo como agente pro-oxidante em metais e interferindo no aumento ou na redução da atividade de enzimas.

Matsubara et al. (2016) e Trindade (2016), ao introduzirem adjuntos como o extrato puro de gengibre e polpa de amora em cerveja artesanal, assim como no presente estudo, identificaram incremento tanto na capacidade antioxidante quanto no aumento

dos compostos fenólicos. Contudo, esse comportamento foi identificado somente nos tratamentos aos quais foram introduzidos a maior porcentagem dos referidos adjuntos que, segundo os autores, também apresentaram alto potencial funcional.

De acordo com a literatura, determinados compostos fitoquímicos presentes no malte e no lúpulo, podem proteger contra doenças cardiovasculares e também contribuir com benefícios à saúde, como o efeito anti-mutagênicos, por exemplo (STEVENS et al., 1998). Dentre os benefícios que o consumo da cerveja pode fornecer, estão os flavonoides que intensificam a atividade antioxidante, atuando como sequestrantes de radicais livres e agindo de forma inibitória em vários estágios de processos relacionados à arterosclerose e aumento de atividades de receptores de LDL (RIO, 2013).

4 CONCLUSÕES

A cerveja tipo *Pilsen* artesanal frutada, apresentou elevado teor antioxidantes entre as amostras analisadas. Nos tratamentos que houve maior quantidade de volume da polpa de maracujá, apresentaram maiores teores de antioxidantes e de compostos fenólicos. Fatores que enriqueceram o produto final, fornecendo benefícios aos indivíduos que as consomem, desde que respeite a quantidade a ser ingerida.

5 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, E.; SILVA, J. B. Cerveja. *In*: VENTURINI FILHO, W. G. (ed.). **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. v. 1, p. 347-382.
- AQUARONE, E., BORZANI, W., SCHMIDELL, W., LIMA, U.A.. **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: Blucher, 2001.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRUNELLI, L. T. **Produção de cerveja com mel: características físico-químicas, energética e sensorial**. 2012. Dissertação (Mestrado em Energia na Agricultura) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- CAMPOS, V. B. ; FOGAÇA, T. S. ; ALMEIDA, W. L. ; BARBOSA, J. A. ; OLIVEIRA, M. R. T. de ; GONDIM, S. C. ; CAVALCANTE, L. F. Caracterização Física e Química de Frutos de Maracujá-amarelo Comercializados em Macapá, Amapá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 1, p. 27-33, mar. 2013.
- CÓRDOVA, K. R. V.; GAMA, T. M. M. T. B.; WINTER, C. M. G.; KASKANTZIS NETO, G.; FREITAS, R. J. S. de. Características Físico-químicas da Casca do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa Degener) obtida por secagem. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 221-230, 2005.
- D'Avila R. F., Luvielmo M. M., Mendonça C. R. B., Márcia M. Jantzen M. M. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, Porto Alegre, v. 8, n. 2, p. 60-68, 31 dez. 2012.
- Fagrell, B., De Faire, U. and Bondy, S. The effects of light to moderate drinking on cardiovascular diseases. **Journal of Internal Medicine**, Stockholm, v. 246, n. 4, p. 331-340, out. 1999.
- KOBORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1008-1014, out. 2005.
- KUNZE, W. **La cerveza terminada**. *In*: KUNZE, W. (ed.). **Tecnología para cerveceros y malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006. p. 826-885.
- LIMA, N.; MOTA, M. **Biotecnologia: fundamentos e aplicações**. Lisboa: Lidel, 2003. v. 1.
- MACIEL, D. C.; ELÓI, L. M. H.; JORDÃO, C. O. Compostos Fenólicos em Diferentes Marcas de Cerveja: Comparação qualitativa de diferentes marcas e sua relação com a saúde humana. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 41-52, 10 jun. 2013.
- MALACRIDA, C. R.; JORGE, N. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 55, n. 1, p. 127-134, Feb. 2012.

MATSUBARA, A. K. ; PLATH, A. R. ; BARBETTA, Paulo Vinicius Carvalho ; UENO, C. T. ; MOREIRA, I. C. ; SAKANAKA, L. S. Desenvolvimento de Cerveja Artesanal de Trigo Adicionada de Gengibre (*Zingiber officinale roscoe*). In: TÓPICOS em Ciência e Tecnologia de Alimentos. 1. ed. São Paulo: Blucher, 2016. v. 2, p. 21 a 47.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. **Nutrire**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 231-247, dez. 2009. Disponível em: <http://www.vinovit.com.br/public/biblioteca-virtual/semente-de-uva/antioxidantesalimentaresimportancia-quimica-e-biologica.pdf>. Acesso em: 5 maio 2016.

RIO, R. F. **Desenvolvimento de uma cerveja formulada com gengibre (*Zingiber officinalis*) e hortelã do Brasil (*Mentha arvensis*): avaliação de seus compostos bioativos e comparação com dois estilos de cerveja existentes no mercado**. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2013.

SOARES, N. Tempo de mudança. **Engarrafador Moderno**, São Caetano do Sul, n. 205, p. 14-22, 2011.

STEVENS, J. F.; MIRANDA, C. L.; BUHLER, D. L.; DEINZER, M. L. Chemistry and Biology of hop flavonoids. **ASBC Journal**, Boston, n. 56, v. 4 p. 136-145, 1998.

TUPINAMBÁ, D. D.; COSTA, A. M.; COHEN, K. de O.; PAES, N. S.; FALEIRO, F. G.; CAMPOS, A. V. de S.; SANTOS, A. L. de B.; SILVA, K. N. da; FARIA, D. A. Caracterização físico-química e funcional de polpas de híbridos comerciais de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg. da safra outubro/2007 sob condições de armazenamento. In: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília, DF. Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais: anais... Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. 1 CD-ROM.

TRINDADE, S. C. **Incorporação de amora na elaboração de cerveja artesanal**. 2016. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Cascavel, 2016.

VERAS, M. C. M.; PINTO, A. C. D. Q.; MENESES, J. B. D. Influência da época de produção e dos estádios de maturação nos maracujás doce e ácido nas condições de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 959-966, maio 2000.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening Primrose Meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 5, p. 1801-1812, maio 1999.

Zeraik M. L., Cíntia A. M. Pereira C. A. M., Zuin V. G., Janete H. Yariwake J.H. Passion fruit: a functional food? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Carlos, v. 20, n. 3, p. 459-471, jul. 2010.