

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS
ALIMENTOS

Clarissa Obem dos Santos

**ELABORAÇÃO DE CERVEJA COM ADIÇÃO DE ERVA-MATE (*Ilex
paraguariensis* A. St.-Hil.): QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E
SENSORIAL**

Santa Maria, RS
2016

Clarissa Obem dos Santos

**ELABORAÇÃO DE CERVEJA COM ADIÇÃO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*
A. St.-Hil.): QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientadora: Prof. Luisa Helena Rychecki Hecktheuer
Co-orientadora: Prof. Cláudia Kaehler Sautter

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pela autora.

Santos, Clarissa Obem dos

Elaboração de cerveja com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): qualidade físico-química e sensorial / Clarissa Obem dos Santos.-2016.

129 p.; 30cm

Orientadora: Luisa Helena Rycheki Hecktheuer

Coorientadora: Cláudia Kaehler Sautter

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2016

1. Compostos Bioativos 2. Fermentação Alcoólica 3. Vida de Prateleira 4. Análise Sensorial I. Hecktheuer, Luisa Helena Rycheki II. Sautter, Cláudia Kaehler III. Título.

© 2016

Todos os direitos autorais reservados a Clarissa Obem dos Santos. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: clarissa_obem@hotmail.com

Clarissa Obem dos Santos

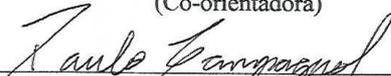
**ELABORAÇÃO DE CERVEJA COM ADIÇÃO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*
A. St.-Hil.): QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Aprovado em 04 de março de 2016:


Luisa Helena Rycheki Hecktheuer, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientador)


Cláudia Kachler Sautter, Dra. (UFSM)
(Co-orientadora)


Paulo Cezar Bastianello Campagnol, Dr. (UFSM)


Sarah Lemos Cogo Prestes, Dra. (IFSul)

Santa Maria, RS,
2016

*Aos meus pais, Sonia e Jorge,
minha irmã, Vanessa e meu noivo,
Joe Piter, pelo amor, incentivo e paciência.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre iluminar e guiar o meu caminho.

Aos meus amados e queridos pais, Jorge Padilha e Sonia Obem, pela educação, por sempre me incentivarem, me apoiarem e confiarem em mim, a saudade valeu a pena. Essa conquista é nossa, amo vocês!

À minha querida irmã, Vanessa Obem, pela presença constante em minha vida. Amo você!

Ao meu noivo, Joe Piter, por estar sempre de mãos dadas comigo, torcendo pelo meu sucesso, me incentivando e, principalmente, pelo seu amor e carinho incondicional. Eu te amo!

À minha filha de quatro patas, Estrela, por me esperar sempre com o seu rabinho abanando, independente do meu humor. Você trouxe mais luz aos meus dias!

À professora Dra. Luisa Helena Rychecki Hecktheuer, minha orientadora, pela oportunidade concedida, aprendizado e confiança no meu trabalho.

À professora Dra. Cláudia Kaehler Sautter, minha co-orientadora, pela oportunidade no mundo da pesquisa, pelos ensinamentos, apoio e confiança.

Às minhas eternas amigas e colegas Márcia Silveira e Marta Deprá, pelas longas horas de laboratório, com quem dividi dúvidas e angústias, mas principalmente alegrias, risos e conquistas. Sem vocês esta conquista não seria possível, muito obrigada!

Aos colegas do Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análise Laboratoriais (Nidal), especialmente aos colegas de pesquisa do laboratório 114.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA) por todas as oportunidades oferecidas.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA) por contribuírem de alguma forma para conquista desse título.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado para o desenvolvimento dessa pesquisa.

RESUMO

ELABORAÇÃO DE CERVEJA COM ADIÇÃO DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL

AUTORA: Clarissa Obem Dos Santos
ORIENTADORA: Luisa Helena Rychecki Hecktheuer
CO-ORIENTADORA: Cláudia Kaehler Sautter

A busca por produtos diferenciados incentiva a procura de novas matérias-primas para agregar compostos bioativos, características físico-químicas e sensoriais à cerveja. Tendo em vista as propriedades benéficas reconhecidas, bem como a sua utilização e aceitação em outros produtos alimentícios, a erva-mate surge como matéria-prima para adição em cerveja, diversificando o mercado de bebidas alcoólicas. Além disso, o seu emprego durante o processamento da cerveja pode contribuir com a formação de compostos de sabor e aroma, assim como com a coloração e o amargor das bebidas alcoólicas. O objetivo desta pesquisa foi elaborar cerveja com adição de erva-mate (EM) em diferentes etapas da produção e estudar o seu potencial fenólico, antioxidante, características físico-químicas e sensoriais. Foram analisados, à partir da elaboração de extratos aquosos empregando-se rampas de temperaturas (45, 65, 73 e 100 °C), utilizadas no processo de mosturação e fervura das cervejas, e concentrações (5, 10, 15 e 20 g EM L⁻¹), seis tipos de ervas-mate comerciais para chimarrão. Os extratos foram analisados quanto aos teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante, pelos métodos de FRAP, ABTS e DPPH. Foram elaboradas três formulações de cervejas com adição de erva-mate tipo chimarrão, composta por 100% de folhas. Tratamento 1, adição no início da etapa de fervura do mosto, Tratamento 2, adição no final da etapa de fervura do mosto e Tratamento 3, adição na maturação das bebidas alcoólicas, além de uma formulação controle. Cada tratamento foi elaborado com quatro concentrações de erva-mate, 5, 10, 15 e 20 g EM L⁻¹. As cervejas elaboradas foram avaliadas nos dias 1, 90 e 180 de armazenamento, quanto as análises de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, capacidade antioxidante, pelos métodos de FRAP, ABTS e DPPH, cor, amargor, sólidos solúveis totais, teor de espuma, pH, acidez total titulável, extrato real e extrato primitivo. A análise sensorial foi realizada com as cervejas dos tratamentos T1, T2 e T3, elaboradas com as concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹ e a formulação controle. As cervejas foram analisadas sensorialmente por meio de testes afetivos de preferência por comparação pareada e de aceitação. Realizou-se ainda a avaliação da intenção de compra do produto e o cálculo do índice de aceitabilidade. As temperaturas de 73 e 100 °C foram as mais indicadas para inserção de erva-mate no processamento da cerveja. Entre as ervas-mate analisadas os extratos obtidos com a moída-grossa e a 100% de folhas mostraram ser mais eficientes na extração de compostos bioativos, destacando-se entre elas a composta por 100% de folhas. Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais das cervejas adicionadas de erva-mate apresentaram valores proporcionais a sua concentrações, o mesmo foi observado para os diferentes métodos de capacidade antioxidante analisados, com destaque para o tratamento com adição de erva-mate no início da etapa de fervura do mosto cervejeiro, podendo ser armazenadas durante 180 dias, sem decréscimo dos compostos. Em relação a cor, concentrações maiores de erva-mate na etapa da fervura tendem a sua estabilização, quando adicionada na maturação os teores foram proporcionais a sua concentração. O teor de amargor apresentou valores inferiores quando adicionou-se erva-mate na maturação das cervejas. A adição de 15 e 20 g EM L⁻¹ nas bebidas alcoólicas influenciou no comportamento dos teores de SST, ATT, etanol, extrato real e extrato primitivo. As amostras de cervejas de cada tratamento, com adição de 5 e 10 g EM L⁻¹ de cerveja, não apresentaram diferença significativa ao nível de significância de 5% quando aplicou-se o teste de comparação pareada. No teste de aceitação a adição de diferentes concentrações de erva-mate durante a fervura do mosto cervejeiro e a maturação das cervejas, contribuíram para a elaboração de bebidas alcoólicas com atributos sensoriais de cor e sabor diferenciados, sem interferir significativamente no aroma, no amargor e na aceitação global das bebidas, apresentando uma boa aceitação por parte dos consumidores. Desta forma, a elaboração de cervejas com adição de erva-mate durante o seu processamento, demonstra o potencial fenólico e antioxidante desta matéria-prima para a elaboração de novos produtos, constituindo uma proposta inovadora para indústria de bebidas alcoólicas.

Palavras-chave: Compostos Bioativos. Fermentação Alcoólica. Vida de Prateleira. Análise Sensorial.

ABSTRACT

BEER ELABORATION WITH YERBA MATE ADDITION (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): PHYSICOCHEMICAL AND SENSORY QUALITY

AUTHOR: Clarissa Obem dos Santos
ADVISOR: Luisa Helena Rychcki Hecktheuer
CO ADVISER: Cláudia Kaehler Sautter

The search for different products encourage the search for new raw materials to add bioactive compounds, physicochemical characteristics and sensory beer. Given the recognized beneficial properties, as well as its use and acceptance in other food products, yerba mate comes as raw material for addition to beer, diversifying the alcoholic beverage market. Furthermore, its use during the processing of beer can contribute to the formation of flavor and aroma compounds, as well as the color and bitterness of alcoholic beverages. The objective of this research was to develop beer with addition of yerba mate (YM) at different stages of production and study their phenolic potential, antioxidant, physicochemical and sensory characteristics. They were analyzed from the preparation of aqueous extracts employing temperatures ramps (45, 65, 73 and 100 °C) used in the mashing process and boil the beer, and concentrations (5, 10, 15 and 20 g YM L⁻¹), six types of commercial yerba mate to chimarrao. The extracts were analyzed for total phenolic content, total flavonoids and antioxidant capacity, by the methods of FRAP, ABTS and DPPH. Three beers formulations were prepared with the addition of yerba mate chimarrao type, consisting of 100% leaves. Treatment 1, added at the start of the wort boiling step, Treatment 2, adding at the end of the wort boiling step and Treatment 3, in addition maturing alcoholic beverages in addition to a control formulation. Each treatment was prepared with four yerba mate concentrations, 5, 10, 15 and 20 g YM L⁻¹. The elaborate beers were evaluated on days 1, 90 and 180 of storage, as the analysis of phenolic compounds, total flavonoids, antioxidant capacity, by the methods of FRAP, ABTS and DPPH, color, bitterness, total soluble solids, foaming, pH, titratable total acidity, real extract and original extract. Sensory analysis was performed with the beers of T1, T2 and T3, prepared with concentrations of 5 and 10 g YM L⁻¹ and formulation control. The beers were analyzed by sensory test affective preferably by paired comparison and acceptance. It is further performed to evaluate the purchase intention of the product and calculate the ratio of acceptability. Temperatures of 73 to 100 °C were the most indicated for yerba mate insertion in the processing of beer. Among the analyzed mate herb extracts obtained from ground-thick sheets at 100% shown to be more efficient in the extraction of bioactive compounds, standing out among them consisting of 100% sheets. The contents of total phenolic compounds and total flavonoids of yerba mate added beers were proportional to their concentrations, the same was observed for the different methods of antioxidant capacity analyzed, with emphasis on the treatment with the addition of yerba mate in early boiling step of the wort brewing, and may be stored for 180 days, no decrease of the compounds. In relation the color, the higher concentrations of yerba mate in the boiling step tend to stabilize when added to the maturation the levels were proportional to their concentration. The bitterness content showed lower values when yerba mate was added in the maturation of beer. The addition of 15 and 20 g YM L⁻¹ in alcoholic beverages affect the behavior of TSS, TTA, ethanol, real extract and original extract. Samples of beers each treatment, with addition of 5 and 10 g YM L⁻¹ beer, showed no significant difference at the 5% significance level when applied the paired comparison test. The acceptance test the addition of yerba mate concentrations during boiling the beer wort and maturation of beer, contributed to the preparation of alcoholic beverages with color sensory attributes and distinct flavor without significantly interfering with the aroma, the bitterness and the global acceptance of drinks and offer great acceptance by consumers. Thus, the preparation of beers with addition of yerba mate during processing, shows the phenolic and antioxidant potential of this raw material for the development of new products and is an innovative proposal for the alcoholic beverage industry.

Key words: Bioactive Compounds. Alcoholic Fermentation. Shelf Life. Sensory Analysis.

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em extratos aquosos de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.....	62
Tabela 2 - Capacidade antioxidante por diferentes métodos em extratos aquosos de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.....	63
Tabela 3 - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em extratos aquosos de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.....	64
Tabela 4 - Capacidade antioxidante por diferentes métodos em extratos aquosos de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.....	65

Artigo 2

Tabela 1 - Rendimento e teor alcoólico das cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	88
Tabela 2 - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	92
Tabela 3 - Capacidade antioxidante por diferentes métodos em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	93
Tabela 4 - Cor, amargor e sólidos solúveis totais em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	94
Tabela 5 - Teor de espuma, pH e acidez total titulável em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	95
Tabela 6 - Extrato real e primitivo em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	96

Artigo 3

Tabela 1 - Número de respostas obtidas para as formulações de cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) no teste afetivo de preferência por comparação pareada.....	105
Tabela 2 - Escores médios dos atributos sensoriais avaliados no teste de aceitação das cervejas elaboradas com diferentes concentrações de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	106
Tabela 3 - Teores de cor e amargor das cervejas adicionadas de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	111

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Artigo 1

Figura 1 - Rampas de temperaturas e tempo do processo de extração de compostos da erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	52
--	----

Artigo 2

Figura 1 - Fluxograma do processamento das cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	71
Figura 2 - Rampa de temperatura e tempo do processo de mosturação das cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	72
Figura 3 - Curvas de fermentação das diferentes formulações de cervejas: acompanhamento dos sólidos solúveis totais ao longo do tempo (°Brix).....	87
Figura 4 - Teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, capacidade antioxidante e cor em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	89
Figura 5 - Amargor, SST, teor de espuma, pH, ATT, extrato real e extrato primitivo em cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	91

Artigo 3

Figura 1 - Fluxograma do processamento das cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	101
Figura 2 - Rampa de temperatura e tempo do processo de mosturação das cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	102
Figura 3 - Índice de aceitabilidade (%) em relação aos atributos sensoriais avaliados nas cervejas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	109
Figura 4 - Intenção de compra das cervejas elaboradas com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS – Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
ANOVA – Análise de variância
ATT – Acidez total titulável
BU – *Bitterness Units*
CAT – Catequina
DPPH – 2,2-Difenil-1-picrilhidrazila
E – Erva-mate especial
EAG – Equivalente Ácido Gálico
EBC – *European Brewery Convention*
EM – Erva-mate
F – Erva-mate 100% folhas
FRAP – Poder antioxidante de redução do ferro
MANOVA – Análise multivariada
MG1 – Erva-mate moída grossa 1
MG2 – Erva-mate moída grossa 2
PF – Erva-mate pura folha
pH – Potencial hidrogeniônico
SST – Sólidos solúveis totais
T – Erva-mate tradicional
TEAC – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox
TPTZ – 2,4,6-Tris(2-piridil)-1,3,5-triazina
UP – Unidade de pasteurização
PAM – Pesquisa Agrícola Municipal
PEVS – Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PET - Polietilenotereftalato

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL UTILIZADA PARA O TESTE AFETIVO DE PREFERÊNCIA POR COMPARAÇÃO PAREADA.....	128
APÊNDICE B – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL UTILIZADA PARA OS TESTES DE ACEITAÇÃO E INTENÇÃO DE COMPRA.....	129

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 OBJETIVOS.....	27
1.1.1 Objetivo geral	27
1.1.2 Objetivos específicos	27
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1 CERVEJA	29
2.1.1 Matérias-primas para elaboração da cerveja	30
2.1.1.1 Água.....	30
2.1.1.2 Malte.....	31
2.1.1.3 Lúpulo.....	31
2.1.1.4 Levedura	32
2.1.1.5 Adjuntos.....	33
2.1.2 Processamento da cerveja	34
2.1.2.1 Maltagem.....	34
2.1.2.2 Moagem do malte	34
2.1.2.3 Mosturação.....	35
2.1.2.4 Fervura	36
2.1.2.5 Fermentação.....	36
2.1.2.6 Maturação	37
2.1.2.7 Clarificação.....	37
2.1.2.8 Estabilização e carbonatação	38
2.1.2.9 Envase e pasteurização	38
2.1.3 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante da cerveja	39
2.2 ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	41
2.2.1 Processamento da erva-mate	41
2.2.2 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante da erva-mate	43
3 ARTIGOS CIENTÍFICOS	45
ARTIGO 1: Potencial fenólico e antioxidante de ervas-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.) para adição em cerveja.....	47
RESUMO	47
ABSTRACT	48
INTRODUÇÃO.....	49

MATERIAL E MÉTODOS	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS.....	60
ARTIGO 2: Elaboração de cerveja com adição de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.): características físico-químicas, potencial fenólico e antioxidante.....	67
RESUMO.....	67
ABSTRACT.....	68
INTRODUÇÃO	69
MATERIAL E MÉTODOS	70
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS.....	83
ARTIGO 3: Análise sensorial de cervejas adicionadas de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.).....	97
RESUMO.....	97
ABSTRACT.....	98
INTRODUÇÃO	99
MATERIAL E MÉTODOS	100
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	105
CONCLUSÃO	112
REFERÊNCIAS.....	112
4 DISCUSSÃO GERAL	115
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	119
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
APÊNDICES	127

1 INTRODUÇÃO

O Brasil conquistou nos anos de 2012, 2013 e 2014 a terceira posição na lista dos maiores produtores mundiais de cervejas, o consumo brasileiro é inferior apenas ao verificado na China e nos Estados Unidos. No último ano foram produzidos 14 bilhões de litros de cerveja no Brasil, enquanto que a China e os Estados Unidos produziram 44 e 22 bilhões de litros, respectivamente. Por outro lado, em relação ao consumo *per capita*, os brasileiros consumiram nos anos de 2012 e 2013 uma média de 67 litros de cerveja/ano ocupando a 27ª posição no *ranking* de consumo *per capita* mundial, que é liderado pela República Tcheca, Namíbia, Áustria e Alemanha, com 147, 108, 105 e 101 litros de cerveja/ano, respectivamente (KIRIN BEER UNIVERSITY, 2015; SICOBE, 2015).

Segundo dados do Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos (SIPE), 232 cervejarias e 1.110 tipos de cervejas estavam registradas no Brasil no ano de 2013 (MAPA, 2016). Os cervejeiros estão constantemente buscando inovações tecnológicas para seus processos, visando a redução de custos, assim como a introdução de novos produtos no mercado. Por ser uma bebida mundialmente consumida, existe uma grande variedade de cervejas e processos de fabricação. Na Europa a preferência é pelas mais fortes, enquanto que em países mais quentes prefere-se as mais leves. É uma das bebidas mais antigas do mundo, porém, como todo produto alimentício, existem diversas pesquisas a fim de substituir alguns componentes. Dessa forma, novas tecnologias estão sendo implantadas com o objetivo de se conseguir maior produtividade e melhor sabor no produto final (REBELLO, 2009).

As matérias-primas utilizadas na elaboração de cerveja são a água, malte de cevada, lúpulo e levedura. Adjuntos também podem ser adicionados, podendo substituir até quarenta e cinco por cento do malte de cevada (BRASIL, 2009). Na literatura, algumas pesquisas citadas com o emprego de novas matérias-primas, com a finalidade de reduzir custos de produção, à partir de adjuntos, agregar características físico-químicas e/ou sensoriais as cervejas, tornando o produto final diferenciado, incluem: hidrolisados de milho e de mandioca (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998), extrato de malte na forma de xarope e em pó (SLEIMAN; VENTURINI FILHO, 2004), malte de milho (SEVERO Jr et al., 2005), cevada e maltose de milho (CURI et al., 2008; CURI; VENTURINI FILHO; NOJIMOTO, 2009), banana (CARVALHO et al., 2009), polpa de murici (ARRUDA; JUNIOR; GOULART, 2013), arroz, milho e malte de sorgo (BATHKE; DRESCH; SOUZA, 2013), mel (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014) e pinhão (BATISTA; SILVA, 2015).

O malte fornece açúcares fermentescíveis enquanto o lúpulo confere amargor e aroma a cerveja, além disso, são responsáveis pela presença de compostos fenólicos e antioxidantes na bebida. Estudos com a finalidade de agregar compostos bioativos a cerveja, à partir de outras matérias-primas, ainda são escassos.

A erva-mate, planta nativa da América do Sul, consumida à partir de infusões, principalmente na forma de chimarrão, tererê e chá-mate, possui composição química rica em compostos bioativos, como, ácidos fenólicos, flavonoides, metilxantinas e saponinas, compostos responsáveis pela alta atividade antioxidante atribuída as folhas da erva-mate (FILIP et al., 2000; FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2006; BASTOS et al., 2007; CARDOZO Jr. et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007; STREIT et al., 2007; ISOLABELLA et al., 2010). Considerando sua composição química, esta planta possui enorme potencial para utilização em outros produtos alimentícios, inovando, por exemplo, a indústria de bebidas alcoólicas. Alguns trabalhos da literatura reportam o desenvolvimento e a avaliação da qualidade de produtos oriundo dessa matéria-prima. Campos et al., (2007), Mello et al., (2009), Berté et al., (2011), Preci et al., (2011) e Faion et al., (2015) desenvolveram, respectivamente, salame, bebida gaseificada, gelatina funcional, iogurte e queijo utilizando extrato de erva-mate como ingrediente alternativo. Chiesa, Schlabit e Souza (2012) desenvolveram e avaliaram as características físico-químicas e sensoriais de barras de cereais adicionadas de erva-mate em pó, tipo chimarrão.

Neste contexto, a busca por produtos diferenciados incentiva a procura de novas matérias-primas para agregar compostos bioativos, características físico-químicas e sensoriais a cerveja. Tendo em vista as propriedades benéficas reconhecidas, bem como a sua utilização e aceitação em outros alimentos, a erva-mate surge como uma matéria-prima para adição em cerveja, diversificando o mercado de bebidas alcoólicas. Além disso, o emprego desta matéria-prima durante as etapas de produção da cerveja pode contribuir com a formação de compostos de sabor e aroma característicos, assim como com a coloração e o amargor das bebidas alcoólicas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Elaborar cerveja com adição de erva-mate em diferentes etapas da produção e estudar o seu potencial fenólico, antioxidante, características físico-químicas e sensoriais.

1.1.2 Objetivos específicos

- Avaliar os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante de erva-mate comercial tipo chimarrão, em diferentes formas de processamento;
- Determinar quais as melhores concentrações e temperaturas de inserção da erva-mate no processamento da cerveja;
- Elaborar cervejas com adição de erva-mate em diferentes etapas da produção;
- Acompanhar o comportamento físico-químico e os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante durante o armazenamento das bebidas;
- Analisar sensorialmente a preferência, a aceitabilidade e a intenção de compra das cervejas formuladas com erva-mate.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CERVEJA

Acredita-se que a prática da cervejaria tenha sido originada na região da Mesopotâmia, onde a cevada cresce em estado selvagem. Há evidências de que a cerveja feita de cevada maltada já era fabricada na Babilônia no ano de 6000 a.C. No Egito, a cerveja era uma bebida nacional de grande consumo, ocupando um lugar importante nos ritos religiosos, sendo distribuída ao povo. Os egípcios fizeram com que a cerveja ficasse conhecida pelos outros povos orientais, fazendo com que chegasse à Europa e para o resto do mundo. Na idade média, o lúpulo foi introduzido como matéria-prima, nessa época ainda utilizava-se de toda espécie de ingredientes na elaboração de cerveja. Por esse motivo, no ano de 1516, o Duque Guilherme IV da Bavária (Alemanha), aprovou a lei alemã *Reinheitsgebot* relacionada com a elaboração de cerveja, que deveria ser produzida somente com cevada, lúpulo e água. No Brasil, o hábito de tomar cerveja foi trazido por D. João VI, no início do século XIX, durante a permanência da família real portuguesa em território brasileiro (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

De acordo com o decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009, que regulamenta a lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, a cerveja é definida como uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. A lei permite que até quarenta e cinco por cento do malte de cevada pode ser substituído por adjuntos, sendo estes a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

A cerveja é classificada pela legislação brasileira quanto ao extrato primitivo, a cor, ao teor alcoólico, a proporção do malte de cevada e a fermentação (BRASIL, 2009).

Quanto ao extrato primitivo é classificada em cerveja leve, a que apresentar extrato primitivo igual ou superior a cinco e inferior a dez e meio por cento, em peso; cerveja *ligh*, a cerveja leve que tiver redução de vinte e cinco por cento do conteúdo de nutrientes ou do valor energético com relação a uma cerveja similar do mesmo fabricante ou do valor médio do conteúdo de três cervejas similares conhecidas e que sejam produzidas na região. A cerveja *light* deverá ter ainda o valor máximo de trinta e cinco quilocalorias por cem mililitros na cerveja pronta para consumo; cerveja comum, cujo extrato primitivo é igual ou superior a dez e meio e inferior a doze por cento, em peso; cerveja extra, cujo extrato primitivo é igual ou

superior a doze e inferior ou igual a quatorze por cento, em peso; cerveja forte, a que apresentar extrato primitivo superior a quatorze por cento, em peso.

Quanto a cor é classificada em cerveja clara, a que tiver cor correspondente a menos de vinte unidades EBC (*European Brewery Convention*); cerveja escura, a que tiver vinte ou mais unidades EBC, e cerveja colorida, aquela que por ação de corantes naturais, apresentar coloração diferentes das definidas no padrão EBC.

Quanto ao teor alcoólico, cerveja sem álcool, quando seu conteúdo em álcool for menor ou igual a meio por cento em volume, não sendo obrigatória a declaração no rótulo do conteúdo alcoólico; ou cerveja com álcool, quando seu conteúdo em álcool for superior a meio por cento em volume, devendo obrigatoriamente constar no rótulo o percentual de álcool em volume.

Quanto à proporção de malte de cevada, cerveja de puro malte, aquela que possuir cem por cento de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares; cerveja, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior ou igual a cinquenta e cinco por cento em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares; ou “cerveja de ...”, seguida do nome do vegetal predominante, aquela que possuir proporção de malte de cevada maior que vinte por cento e menor que cinquenta e cinco por cento, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares. Quanto à fermentação, é classificada em baixa ou alta fermentação.

2.1.1 Matérias-primas para elaboração da cerveja

2.1.1.1 Água

A água é, pela quantidade, a principal matéria-prima utilizada no decorrer de um processo cervejeiro, pois aproximadamente 92 a 95% do peso da cerveja é constituído de água (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010). Utilizada para preparar o mosto cervejeiro, sua qualidade é de grande importância para a qualidade e características da cerveja, os sais contidos na água modificam o pH do malte e do mosto (VALLS BELLÉS et al., 2005). A proporção entre os principais sais solúveis na água usada para a fabricação de cerveja afeta o aroma e a cor da bebida. Esses sais são principalmente bicarbonato, cloreto e sulfato de sódio, cálcio e magnésio (OETTERER; ALCARDE, 2006).

Deve ser potável, não alcalina, levemente dura, com cerca de 500 mg L⁻¹ de sulfato de cálcio e corrigida quimicamente se estiver fora dos padrões (OETTERER; ALCARDE, 2006).

2.1.1.2 Malte

O malte utilizado em cervejarias é obtido de cevada, cereal de cultivo muito antigo, utilizado em culturas neolíticas no Egito entre 6000 e 5000 anos a.C. A cevada é uma gramínea pertencente ao gênero *Hordeum* cujos grãos na espiga, alinhados em duas ou seis fileiras, são envoltos por diversas camadas celulósicas, sendo a primeira camada denominada palha, eliminada no beneficiamento e que posteriormente desempenham um papel importante na técnica cervejeira (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

O grão de cevada é constituído de três partes principais: substâncias do corpo farinhoso, casca e embrião. As substâncias do corpo farinhoso são fundamentais para a posterior formação do extrato solúvel na elaboração do mosto. A casca protege o grão contra influências atmosféricas danosas e possibilita a formação de uma camada filtrante durante a clarificação do mosto. Já o embrião sob condições adequadas germina e forma folículo e raiz, iniciando o processo de transformação no endosperma e ativando enzimas, que são de grande importância na elaboração do mosto (OETTERER; ALCARDE, 2006).

A principal razão para o uso do malte é o seu alto poder diastásico e sua alta atividade enzimática ou alta atividade de invertase no grão. As enzimas presente no malte são α -amilase, β -amilase, maltase e protease. A α -amilase aparece em teores de 30 a 60 unidades de dextrinas e seu poder diastásico no malte chega a 250%, quando na cevada é de 50%. Essas enzimas ativadas pelo processo de germinação do grão, transformam o amido, presente no próprio malte e originalmente na cevada, em açúcares, que serão consumidos pelas leveduras com consequente produção de álcool (OETTERER; ALCARDE, 2006).

2.1.1.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus* L.) é uma planta de difícil cultivo, típica de regiões frias, é dióica, possuindo flores masculinas e femininas em plantas diferentes. As flores femininas são agrupadas em cachos ou umbelas que possuem uma vértebra que apresenta várias dobras sobre as quais se fixam os pares de brácteas e bractéolas, estas formam glândulas onde são produzidos os grânulos de lupulina, que encerra as substâncias de interesse cervejeiro pelo amargor e o aroma característicos da cerveja. O lúpulo pode ser comercializado na forma de flores secas (*in natura*), *pellets* ou em extrato, podendo tradicionalmente ser classificados conforme suas características predominantes e variedades da planta em lúpulos aromáticos e de amargor (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

As substâncias mais importantes e fundamentais do lúpulo no processo cervejeiro são os óleos essenciais, as substâncias minerais, os polifenóis e as resinas amargas. Apesar de serem altamente voláteis, ocorrendo perdas de 96 a 98% no decorrer do processo cervejeiro, os óleos essenciais conferem ao mosto e à cerveja o caráter aromático do lúpulo. Os polifenóis são ricos em taninos de baixa massa molar, protetores da cerveja, ao contrário de seus produtos resultantes de condensações poliméricas, de média e alta massas molares, que reagem com as proteínas causando turvações coloidais, prejudicando características de espuma, corpo e paladar da cerveja. As resinas do lúpulo por sua vez, podem ser resinas brandas totais, que apresentam α -ácidos ou humulonas que após isomerização tornam-se solúveis e responsáveis pelo principal amargor da cerveja, e resinas duras, substâncias solúveis e responsáveis por um amargor brutal e áspero (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.1.4 Levedura

As características de sabor e aroma de qualquer cerveja estão determinadas de forma preponderantemente pelo tipo de levedura utilizado. Embora o etanol seja o principal produto de excreção produzido pela levedura durante a fermentação do mosto, esse álcool primário tem pequeno impacto no sabor da cerveja. O tipo e a concentração de vários outros produtos de excreção formados durante a fermentação são quem primariamente determinam o sabor da cerveja. Sua formação depende do balanço metabólico global do cultivo da levedura (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Vários fatores podem afetar esse balanço e conseqüentemente o sabor da cerveja, incluindo características genéticas (escolha da cepa de levedura empregada), fisiologia celular (tolerância ao estresse pelas células de levedura, a viabilidade e a vitalidade das células e a concentração celular do inóculo), disponibilidade nutricional (concentração e a natureza do nitrogênio assimilável, a variedade e a concentração de açúcares no mosto e a disponibilidade de íons metálicos) e condições físicas (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e a densidade do mosto) (ROSA; AFONSO, 2015).

O gênero *Saccharomyces* apresenta várias cepas consideradas seguras e capazes de produzir dois metabólitos primários importantes, etanol e dióxido de carbono. Os dois tipos de cervejas mais importantes, *lager* e *ale*, são fermentados com cepas de *S. uvarum* (*carlsbergensis*) e *S. cerevisiae*, respectivamente. A cerveja *lager* é produzida por leveduras de baixa fermentação à 7-15 °C, as quais floculam no final da fermentação primária ou principal (7 a 10 dias), sendo coletadas na base do fermentador. As leveduras de alta fermentação, usadas

para a produção de cervejas *ale*, fermentam com temperaturas entre 18 e 22 °C. No final da fermentação (3 a 5 dias), as células adsorvidas nas bolhas de CO₂, são carregadas para a superfície do mosto onde são coletadas (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.1.5 Adjuntos

A legislação cervejeira considera adjuntos cervejeiros a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

Os adjuntos cereais são adicionados na fase de preparação do mosto cervejeiro, utilizando-se das enzimas contidas no próprio malte para hidrolisar o amido existente em açúcares fermentescíveis. Os adjuntos mais comuns são o milho, o arroz e o trigo, mas também podem ser utilizados o sorgo, a aveia e o triticale. As enzimas desdobram o amido contido no próprio malte e podem ainda hidrolisar o correspondente a 50% do peso de malte, em forma de adjunto amiláceo acrescentado, sendo necessário acima desse limite a adição de enzimas suplementares (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Quando da utilização de adjuntos na forma de açúcares (cristalizados ou xaropes), há vantagens sobre os cereais, como por exemplo, baixos teores de proteínas, não precisam de pré-tratamento (sacarificação) e menores volumes de armazenamento devido à sua maior concentração. Entretanto, altas concentrações de glicose podem causar efeito de inibição denominado de fermentação lenta ou fermentação por arraste. No entanto, com o avanço da tecnologia de processos enzimáticos, foi possível obter xaropes de maltose derivados do milho contendo determinados perfis de carboidratos, como por exemplo, o xarope com alto teor de maltose, ou ainda a maltose de cereais na forma cristalina. Esses novos produtos permitem a introdução de adjuntos sem alterar o perfil de carboidratos do mosto, e, conseqüentemente, evitaram maiores dificuldades na sala de preparação do mosto, na fermentação e na maturação. Em análises sensoriais realizadas na cerveja produzida utilizando o xarope com alto teor de maltose não foram verificadas diferenças significativas em relação a outros produtos obtidos em processos tradicionais (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Segundo D'Ávila et al., (2012), a adição de adjuntos durante a mosturação é uma alternativa viável para a diminuição de custos de cervejarias e a complementação de carboidratos do malte de cevada, desde que não se ultrapassem as quantidades máximas estabelecidas pela legislação. Na literatura, o emprego de hidrolisados de milho e de mandioca (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998), extrato de malte na forma de xarope e em pó

(SLEIMAN; VENTURINI FILHO, 2004), malte de milho (SEVERO Jr et al., 2005), cevada e maltose de milho (CURI et al., 2008; CURI; VENTURINI FILHO; NOJIMOTO, 2009) e arroz, milho e malte de sorgo (BATHKE; DRESCH; SOUZA, 2013) já foram estudados como adjuntos cervejeiros.

2.1.2 Processamento da cerveja

2.1.2.1 Maltagem

Nesta etapa é realizado o processo de fabricação da cevada em malte, com a finalidade de produzir enzimas, necessárias à hidrólise dos polissacarídeos e do amido presente no grão (BRIGGS, 1998; OETTERER; ALCARDE, 2006).

Esse processo envolve a maceração da cevada, germinação e secagem do grão. A cevada é colocada sob maceração em água até alcançar cerca de 45% de umidade nos grãos, após é realizada a germinação em condições controladas de temperatura, umidade e aeração. Posteriormente, os grãos são secos em temperaturas próximas a 70 °C até que o teor de umidade dos grãos seja reduzido a aproximadamente 10%. O controle da umidade e da temperatura são importantes devido as condições de desenvolvimento da reação de Maillard, o que caracterizará a cor do malte obtido (BRIGGS, 1998; OETTERER; ALCARDE, 2006).

2.1.2.2 Moagem do malte

Esta etapa tem influência direta sobre a rapidez das transformações físico-químicas, o rendimento, a clarificação e a qualidade do produto final (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010). O malte, seco ou úmido, é moído por esmagamento entre rolos, em número de 2, 4 ou 6. O importante é que a moagem não seja muito severa para não prejudicar a fase de filtração do mosto, pois as cascas do malte servirão de camada filtrante do processo, no entanto, se a moagem for muito grosseira, não atingirá seu objetivo, que é facilitar a hidrólise do amido pela maior superfície de contato do substrato amiláceo com enzimas do malte (OETTERER; ALCARDE, 2006).

O objetivo desta etapa é a redução do grão de malte de modo uniforme, para obter, rompimento da casca no sentido longitudinal, expondo dessa forma o endosperma, porção interna do grão; a desintegração total do endosperma, promovendo uma melhor atuação enzimática e a produção mínima de farinha com granulometria muito fina, evitando a formação

de substâncias que produzam uma quantidade excessiva de pasta dentro da solução (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.2.3 Mosturação

A mosturação objetiva a extração de amido, proteínas, peptídeos, lipídeos, e outros componentes a partir do malte e adjuntos. Nessa etapa, a mistura do malte moído juntamente com a água em temperatura controlada, solubiliza as substâncias solúveis em água e, com o auxílio de enzimas, presentes no malte, solubiliza as substâncias insolúveis, promovendo a gomificação e posterior hidrólise do amido a açúcares (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Durante a mosturação utiliza-se aquecimento gradativo, para que as enzimas do malte entrem em ação nas respectivas temperaturas ótimas de ativação. Quando a mistura estiver a 40-50 °C estarão agindo as enzimas de decomposição das substâncias hemicelulósicas e gomas (glucanas), as quais são transformadas em substâncias de baixo peso molecular e solúveis em água. Sob temperaturas de 45-55 °C agem as proteases, as quais quebram a cadeia protéica, produzindo peptídeos e aminoácidos. Nas temperaturas mais altas (60-75 °C) ocorre a sacarificação do amido, o qual é transformado em açúcares fermentescíveis, principalmente maltose e dextrinas não fermentáveis. Em temperaturas de 60 a 65 °C, age a β -amilase, e nas temperaturas de 70 a 75 °C, a α -amilase (OETTERER; ALCARDE, 2006).

O amido, em contato com as enzimas α -amilase e β -amilase, terá suas ligações α -1,4 rompidas, originando maltoses, que serão degradadas a glicose pela ação da maltase. Dextrinas com ligações α -1,6 permanecerão sem se degradar e propiciarão “corpo” à cerveja, além de colaborarem no sabor e no aroma da bebida. Os aminoácidos produzidos pelas enzimas proteolíticas servem de nutrientes às leveduras na fase de fermentação. As proteínas não degradadas também são necessárias para proporcionar boa qualidade e estabilidade à espuma da cerveja (OETTERER; ALCARDE, 2006).

A etapa final da mosturação é a clarificação ou filtração do mosto, realizada com a finalidade de separar o extrato líquido da parte sólida insolúvel (resíduo de malte). O resíduo de malte é utilizado como camada filtrante, após a filtração são realizadas lavagens sucessivas do elemento filtrante com água a 75 °C, objetivando recuperar a maior parte do extrato líquido que fica retido no resíduo de malte após a filtração, no final do processo o resíduo deve apresentar aproximadamente 1% de extratos solúveis (OETTERER; ALCARDE, 2006).

2.1.2.4 Fervura

Após a mosturação, o mosto é separado do resíduo de malte e adicionado de lúpulo de amargor, a aproximadamente 100 °C. O lúpulo aromático é adicionado ao final da fervura, pois os óleos essenciais responsáveis pelo aroma da cerveja são voláteis e podem se perder nesta etapa (DENKE et al., 2000; OETTERER; ALCARDE, 2006).

A fervura do mosto visa a inativação de enzimas, esterilização do mosto, coagulação proteica, formação de compostos responsáveis pela cor e sabor do produto, através da reação de Maillard e caramelização, e extração de compostos de amargor e aromáticos do lúpulo. Nesta etapa ainda é possível remover, por evaporação, compostos voláteis indesejáveis, como o dimetilsulfito (DENKE et al., 2000; DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Posteriormente a etapa de fervura, o mosto deve passar por etapas de retirada do precipitado, resfriamento e posterior aeração. Durante a primeira etapa, fazendo uso de forças centrípetas através da rotação forçada do meio, precipitam-se os complexos de proteínas, resinas e taninos denominados de *trub*, os quais sedimentam no fundo do tanque, sendo separados do mosto límpido. Em seguida, o mosto é resfriado em trocador de calor de placas, até a temperatura de fermentação: 7 a 15 °C para o processo de baixa fermentação (*lager*) e 18 e 22 °C para o de alta fermentação (*ale*). O mosto resfriado recebe uma aeração, por meio da introdução de ar estéril ou oxigênio, visando estimular o crescimento das leveduras principalmente no início do processo fermentativo (OETTERER; ALCARDE, 2006; DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.2.5 Fermentação

No processo de fermentação, a levedura é adicionada no mosto aerado, e se reproduz rapidamente devido à alta quantidade de O₂ dissolvido no meio, oxidando o piruvato até CO₂ e água. Depois que todo o oxigênio é consumido, as células de levedura passam a utilizar o açúcar de forma anaeróbica, fermentando esses açúcares em etanol e CO₂ (STEWART, 2000).

Os principais produtos formados durante a fermentação são etanol, glicerol, ácido láctico e dióxido de carbono, mas há a formação de vários outros compostos em baixas concentrações, resultantes do metabolismo de açúcares e aminoácidos. Podem ser formados como produtos secundários ácidos orgânicos, como o ácido cítrico, acético, pirúvico, succínico e axaloacético; ésteres, como o acetato de n-propila, acetato de isoamila e o acetato de etila; compostos sulfurados, como o dimetilsulfito e dióxido de enxofre; e outros compostos como acetaldeído,

dicetonas vicinais e alguns álcoois superiores, como 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol e 3-metil-1-butanol. Estes contribuem com propriedades organolépticas à cerveja, tornando a etapa de fermentação a fase mais importante para definir o paladar da cerveja. (STEWART, 2000; ARAÚJO, 2003; ROSA; AFONSO, 2015).

2.1.2.6 *Maturação*

Após a fermentação principal, a cerveja é chamada de “verde”, pois ainda possui suspensão de leveduras e uma parte de material fermentescível, sendo necessário uma fermentação secundária, chamada maturação. Esta etapa do processo é realizada sob temperaturas de 0 a 3 °C, e contribui para a clarificação da cerveja e melhoria do seu sabor (AQUARONE; ALMEIDA LIMA; BORZANI, 1983)

A maior parte da levedura é separada por decantação (sedimentação), tendo início a maturação. Nessa fase, pequenas e sutis transformações ocorrem para aprimorar o sabor da cerveja. O carboidrato residual é consumido pelas leveduras remanescentes, fenômeno conhecido por fermentação secundária. Essas leveduras também metabolizam substâncias indesejáveis oriundas da fermentação (acetaldeído em ácido acético, dicetonas vicinais, como a 2,3-pentanodiona em 2,3-butanodiol, e compostos sulfurados como o sulfeto de dietila, $(C_2H_5)_2S$, em sulfatos inorgânicos e etanol). A maturação leva de 6 a 30 dias, variando de uma cervejaria para outra. Ao final dessa fase, a cerveja está praticamente concluída, com aroma e sabor finais definidos (ROSA; AFONSO, 2015).

2.1.2.7 *Clarificação*

Para a obtenção de um produto brilhante e límpido é necessária uma etapa de clarificação antes do engarrafamento da cerveja, que permita remover leveduras, partículas coloidais dos complexos proteínas-polifenóis e outras substâncias insolúveis formadas na etapa de maturação, devido ao baixo pH existente e às baixas temperaturas empregadas durante esta etapa. A sedimentação por gravidade, o uso de agentes clarificantes (ictiocola ou *isinglass*, ácido tânico, silicato e a sílica gel), a centrifugação e a filtração são técnicas que podem ser utilizadas individualmente ou em combinação para a clarificação da cerveja (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.2.8 Estabilização e carbonatação

Visando aumentar a vida de prateleira da cerveja, outros tratamentos, além da clarificação, podem ser aplicados na etapa de acabamento da bebida alcoólica. A remoção de proteínas e polifenóis pode aumentar o prazo de validade do produto, pois são responsáveis pela turbidez na cerveja devido às ligações cruzadas desses compostos. Os polifenóis podem ser removidos com polivinilpolipirrolidona (PVPP), enquanto que as proteínas podem ser precipitadas pela adição de ácido tânico, hidrolisadas com a enzima papaína ou mais comumente, adsorvidas em hidrogéis e xerogéis de sílica (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

Na etapa de carbonatação, o dióxido de carbono (CO₂) é adicionado à cerveja na etapa anterior ao engarrafamento. O CO₂ é um constituinte muito importante da cerveja, responsável pela efervescência e a sensação de acidez deixada na boca devido às suas propriedades de gás ácido. Pode ser realizada pela injeção de CO₂ em linha, procedimento mais simples e comumente utilizado nas cerjearias, ou em tanque (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.2.9 Envase e pasteurização

O envase é o procedimento de engarrafamento, enlatamento ou embarrilamento do produto, é a etapa mais dispendiosa em uma cervejaria, em termos de matérias-primas e de mão de obra. A cerveja é uma bebida que apresenta características desfavoráveis para o desenvolvimento de vários micro-organismos, sendo reconhecida como um produto de considerável estabilidade microbiológica. Porém, algumas espécies de micro-organismos são capazes de se multiplicar nessa bebida, conferindo características indesejáveis, tais como turbidez e mudanças sensoriais, as quais prejudicam a qualidade do produto final. Por esse motivo, antes ou durante o envase a maioria das cervejas são tratadas por procedimentos de pasteurização em *flash* ou em túnel, ou filtração estéril, visando a eliminação de levedura cervejeira residual, leveduras selvagens ou bactérias contaminantes (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

A pasteurização em *flash* é realizada antes do engarrafamento da cerveja, constituindo uma alternativa a filtração estéril. Essa técnica é aplicada comumente ao produto a ser disposto em barris. Entre as suas principais vantagens destacam-se os menores custos de instalação e a necessidade de um menor espaço na planta, em comparação a pasteurização em túnel. A pasteurização em túnel, por outro lado, aplicada à cerveja após enchimento em garrafas e latas,

é a forma mais segura de garantir até seis meses de vida de prateleira do produto nesses tipos de embalagens. Essa técnica baseia-se na aplicação de uma menor temperatura do que a utilizada na pasteurização em *flash*, durante um período de tempo maior, até 1 hora, devido ao tempo necessário para elevar, estabilizar e diminuir a temperatura do líquido no interior da embalagem. O tratamento térmico da cerveja é representado pelo termo unidades de pasteurização (UP), uma UP é definida como a destruição biológica pela exposição da cerveja durante 1 minuto à 60 °C. Tratamentos térmicos com 5-6 UP podem ser utilizados quando as concentrações de micro-organismos contaminantes no produto for inferior a 100 células mL⁻¹. Porém, a pasteurização da cerveja é normalmente realizada com 15-30 UP, podendo ser ainda empregados tratamentos com níveis mais elevados, como por exemplo, no caso de cervejas com baixo teor de álcool, as quais são mais propensas à contaminação (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010).

2.1.3 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante da cerveja

A cerveja é uma bebida que possui capacidade antioxidante moderada, devido à presença de compostos fenólicos, associada a um baixo teor alcoólico. Desta forma ela promove o aumento da capacidade antioxidante do plasma sem os efeitos negativos provocado pelo consumo de altas doses de etanol (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

A cerveja pode ser considerada uma boa fonte de polifenóis, pois uma quantidade considerável de compostos fenólicos é encontrada tanto no malte quanto no lúpulo. Já foram identificados mais de 50 compostos fenólicos da cerveja, cerca de 70 a 80% dos compostos fenólicos são originários do malte, enquanto 20 a 30% se originam do lúpulo. No entanto, os compostos fenólicos originários da cevada sofrem mudanças durante o processamento, e por isso não são tão bem caracterizados quanto os derivados do lúpulo. A etapa de fervura provoca uma série de mudanças na composição de polifenóis do mosto, que já é bastante complexa, dificultando a predição do destino dos polifenóis desta mistura. Tal complexidade deve-se, em parte, à facilidade de oxidação e polimerização de vários compostos fenólicos (KEUKELEIRE, 2000; LUGASI, 2003; GERHAUSER, 2005).

Os polifenóis desempenham um papel importante nas características sensoriais (cor, aroma e sabor) e nutricionais da cerveja (GONZÁLEZ SAN JOSÉ, MUÑIZ RODRÍGUEZ e VALLS BELLÉS, 2001). Estes compostos são importantes devido à sua influência na estabilidade coloidal da cerveja, sendo responsável pela turbidez originada pela interação com as proteínas (FREITAS et al., 2006).

O teor fenólico da cerveja depende, principalmente, da matéria-prima (malte, adjuntos e lúpulo) utilizada em sua elaboração e do método de fermentação utilizado (ESTRUCH et al., 2015). Os polifenóis majoritários dos cereais são os ácidos hidroxicinâmicos, como o ácido ferúlico, ácidos hidroxibenzóicos e as flavonas, como a apigenina e seus conjugados. Cada tipo de cereal apresenta um perfil polifenólico diferente e as concentrações dos polifenóis majoritários variam entre eles. Por isso, o perfil e concentração dos polifenóis no produto final dependerá do tipo de cereal, normalmente malte de cevada, ou mescla de cereais (adjuntos) utilizados inicialmente (ZHAO et al., 2010). O malte é submetido a processo de tostagem antes de ser utilizado na elaboração de cerveja. De acordo com o tipo de bebida que for elaborar, é produzido malte claro ou mais escuro. Desta forma, o grau de tostagem dos maltes também afetará o perfil fenólico final da cerveja, pois altas temperaturas oxidam os compostos fenólicos (ESTRUCH et al., 2015).

O lúpulo é rico em polifenóis prenilados, como os prenilflavonoides e os ácidos amargos (humulonas e lupulonas). Os polifenóis do lúpulo são compostos mais característicos da cerveja, pois não se encontram em outro alimento ou bebida, seu teor depende da quantidade e variedade do lúpulo que é adicionado durante a elaboração da cerveja (ESTRUCH et al., 2015). Em um estudo elaborado por Ceslová et al., (2009), foi comparado os teores de polifenóis do lúpulo em 13 cervejas do mercado tcheco e se comprovou que os teores mais altos de prenilflavonoides e ácidos amargos se encontraram nas cervejas *Premium Lager*, coincidindo com as mais amargas do estudo. Por outro lado, as cervejas com menor teor de polifenóis prenilados do lúpulo foram as cervejas sem álcool.

Outro fator que pode influenciar o perfil e o teor fenólico é o tipo de fermentação. As cervejas do tipo *ale* se caracterizam por serem normalmente mais fortes, com mais corpo e frequentemente são adicionadas de mais lúpulo, por isso, se espera encontrar níveis de polifenóis mais altos que nas do tipo *lager* (ESTRUCH et al., 2015).

Estruch et al., (2015) compararam as diferenças do teor fenólico entre distintos tipos de cerveja, incluindo 52 cervejas *lager* (*lager* e *pilsen*), 53 cervejas *ale* (*ale*, *abbey beer*, *weissbier* e *stout*) e 5 cervejas sem álcool. As cervejas se classificaram por teor fenólico total em três grupos: *abbey beer* e cerveja especial (*ale*) (72,2 mg EAG L⁻¹), cerveja *lager* (57,6 mg EAG L⁻¹) e cervejas sem álcool (45,9 mg EAG L⁻¹). Com este estudo os autores puderam concluir que o método de elaboração da cerveja influencia no perfil e teor fenólico da mesma, seja pelo tipo de fermentação que se utiliza na sua fabricação ou pelo tipo de matéria-prima e quantidade empregada.

Estruch et al., (2015), ao determinarem o perfil fenólico de cervejas comerciais dos tipos *lager*, *pilsen*, *malzbier* e cerveja sem álcool, em espectrofotômetro de massas de alta resolução, identificaram 47 compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos simples, ácidos hidroxicinnamoilquínicos, flavanoles, flavonoles, flavonas, fenoles alquilmetoxi, ácidos amargos, ácidos hidroxifenilacéticos e prenilflavanoídeos. De todos os compostos identificados, 7 não haviam sido descritos antes na cerveja: ácido feruolquínico, ácido cafeico-*O*-hexosido, ácido cumárico-*O*-hexosido, ácido sinápico-*O*hexosido, catequina-*O*-dihexosido, canferol-*O*-hexosido, and apigenina-*C*-hexosido- pentosido.

2.2 ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.)

A erva-mate pertence à família *Arquifoleaceae* e ao gênero *Ilex*, possui ocorrência nativa em três países da América do Sul: Brasil, Argentina e Paraguai. Mundialmente, a produção de erva-mate está presente no Brasil com 935 toneladas de erva-mate verde (IBGE, 2015a; IBGE, 2015b), na Argentina com 775 toneladas de erva-mate verde (INYM, 2015) e no Paraguai com 85 toneladas (MAG, 2015).

No Brasil os dados são do IBGE, que faz duas pesquisas, PAM (Pesquisa Agrícola Municipal) e PEVS (Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura). Pelo PAM, em 2014 foram produzidas 602.484 toneladas de erva-mate verde numa área colhida de 70.820 hectares, resultando numa produtividade média de 8.507 kg ha⁻¹. O principal responsável pela produção de ervais cultivados ou a pleno sol é o Rio Grande do Sul, com 276.232 toneladas ou 46% do total, em seguida está o Paraná com 225.078 toneladas ou 38% (IBGE, 2015a).

Pelos dados do PEVS, no ano de 2014 a erva-mate nativa ocorreu na região sul, nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e na região centro-oeste, no estado do Mato Grosso do Sul. Na região sul o maior produtor é o estado do Paraná, com 86,3% da quantidade obtida no País, que em 2014, foi de 333.017 toneladas, 10,9% maior que a obtida no ano anterior. Os estados de Santa Catarina (7,6%) e Rio Grande do Sul (6,1%) completam a lista dos produtores desta região (IBGE, 2015b).

2.2.1 Processamento da erva-mate

De acordo com a legislação brasileira, a erva-mate é definida como o produto constituído exclusivamente pelas folhas e ramos de *Ilex paraguariensis* St. Hil., obtido por

processo de secagem e fragmentação destinado ao preparo de "chimarrão" ou "tererê" podendo ser adicionado de açúcar (BRASIL, 2005).

A erva-mate é consumida na forma de duas infusões quentes, o chá, caracterizado pela adição de água fervente sobre o material seco da planta, e o chimarrão, onde repetidas adições de água quente são realizadas sobre a erva-mate. Também pode ser utilizada na forma de tererê, uma infusão fria, realizada a partir de adições sucessivas de água fria (FILIP et al., 2000; MACHADO et al., 2007).

A maior parte da erva-mate produzida na América do Sul destina-se ao consumo na forma de chimarrão. Entretanto, o mercado para bebidas à base de chá-mate tem crescido a cada ano, seja pelos benefícios à saúde que começam a ser veiculados pela mídia seja pelo lançamento de novos produtos com maior aceitação pelo público, como as bebidas prontas para beber aromatizadas com aroma natural de frutas (maçã, pêssego). A Alemanha é um grande importador da erva-mate produzida no Brasil, a qual é vendida como chá medicinal (BASTOS e TORRES, 2003).

O consumo de bebidas à base de erva-mate remonta de centenas de anos e sua utilização na medicina popular e por herboristas é recomendada para artrite, dor de cabeça, constipação, reumatismo, hemorróidas, obesidade, fadiga, retenção de líquido, hipertensão, digestão lenta e desordens hepáticas. As xantinas cafeína, teobromina, a teofilina e os compostos fenólicos como ácido clorogênico, ácido cafeico e flavonoides são responsáveis por vários dos efeitos farmacológicos citados (BASTOS e TORRES, 2003).

Comercialmente, a erva-mate destinada ao preparo do chimarrão é apresentada nas formas tradicional, nativa, suave e moída grossa. A erva-mate comercial mais comum, e mais consumida é a tradicional, composta de uma mistura de folhas e ramos de plantas de erva-mate nativas e cultivadas, normalmente na proporção de 50% cada. A erva-mate nativa é constituída unicamente de plantas nativas de erva-mate, ou com pouca adição de erva-mate cultivada, sendo caracterizada por um sabor acentuado. A erva-mate suave, é uma mistura de erva-mate nativa e cultivada, com adição de sacarose. Já a erva-mate moída grossa é uma mistura de plantas nativas e cultivadas, mas com tamanho de partícula maior. É caracterizada por uma maior permeabilidade a água quente entre as partículas da erva-mate, e por um gosto amargo pronunciado (MAINHART et al., 2010; BIZZOTTO et al., 2012).

O processamento da erva-mate para chimarrão consiste basicamente de três etapas: sapeco, secagem e cancheamento (DANIEL, 2009; ESMELINDRO et al., 2012).

O sapeco é realizado junto ao fogo direto e consiste na passagem rápida dos ramos com folhas sobre as chamas do sapecador. Esta etapa tem por função a retirada da umidade

superficial e inativação de enzimas (peroxidase e polifenoloxidase) que causam a oxidação do produto. A temperatura média da erva na entrada do sapecador é de 400 °C e na saída é de 65 °C. O tempo de residência oscila em torno de 8 minutos.

A etapa de secagem pode ser realizada em dois tipos de secadores mecânicos: rotativo e de esteira. A principal diferença entre os dois tipos de secadores está relacionada com o contato da matéria-prima com a fumaça durante o processo de secagem. No secador rotativo, a fumaça entra em contato direto com o produto, e no secador de esteira, o contato é indireto, causando menores danos à matéria-prima. O tempo de residência e a temperatura média da erva nos secadores dependem das características operacionais de cada um. No secador de esteira, o tempo médio é de 3 horas e a temperatura varia entre 90 e 110 °C. No secador rotativo, o produto permanece em contato direto com a fumaça por aproximadamente 30 minutos. No entanto, a temperatura não apresenta a mesma uniformidade da utilizada no secador de esteira, sendo que na entrada do secador a temperatura média é de 350 °C e na saída 110 °C.

O cancheamento consiste na trituração da erva após o processo de secagem. Em seguida, a erva é peneirada e o material coletado passa a denominar-se erva cancheada. Esta pode ser usada diretamente como matéria-prima para a produção de chás ou, após passar por um processo de soque, como chimarrão.

2.2.2 Compostos fenólicos e capacidade antioxidante da erva-mate

Os polifenóis são compostos de origem vegetal que fazem parte do metabolismo secundário das plantas e participam de algumas características sensoriais dos alimentos como cor, sabor, amargor, adstringência e aroma. Podem ser divididos em flavonoides e não flavonoides, os denominados de flavonoides são os que apresentam a estrutura química descrita como C₆-C₃-C₆. Os não flavonoides são classificados como: os derivados das estruturas químicas C₆-C₁ específicas dos ácidos hidroxibenzóico, gálico e elágico; os derivados das estruturas químicas C₆-C₃ específicas dos ácidos cafêico e p-cumárico hidroxicinamatos; e os derivados das estruturas químicas C₆-C₂-C₆ específicas do trans-resveratrol, cis-resveratrol e trans-resveratrol-glucosídeo (BURNS et al., 2001; MELO; GUERRA, 2002).

Os compostos fenólicos da *Ilex paraguariensis* tem sido foco de vários estudos nos últimos anos. Os principais compostos bioativos presentes na erva-mate são os ácidos fenólicos, os flavonoides, as saponinas e as metilxantinas (FILIP et al., 2000; FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2006; BASTOS et al., 2007; CARDOZO Jr. et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007; STREIT et al., 2007; ISOLABELLA et al., 2010).

Os compostos fenólicos derivados do ácido cafeico (ácido clorogênico, 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico) e os flavonoides (rutina, quercetina, kaempferol) são os compostos mais abundantes encontrados no mate (BASTOS et al., 2006; BASTOS et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007). Na classe das metilxantinas, Cardozo Jr et al., (2007) cita a cafeína e a teobromina.

A constituição química da erva-mate, investigada por diversos autores, demonstra a riqueza de compostos bioativos presentes nesta planta. Ao estudarem a atividade antioxidante de *Ilex paraguariensis* e de outras plantas do gênero *Ilex*, Filip et al., (2000) verificaram que a espécie *Ilex paraguariensis*, apresenta importante atividade antioxidante, o que não foi observado para as outras espécies de *Ilex*, além de teores de derivados do ácido cafeico ser superior ao das outras espécies. Filip et al., (2001) ao identificaram e quantificaram os derivados cafeoil (ácido caféico, ácido clorogênico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e o ácido 4,5- dicafeoilquínico) e os flavonoides (quercetina, rutina e kaempferol) de sete espécies *Ilex* da América do Sul, verificaram que a *Ilex paraguariensis* apresentou maior teor de fenólicos que demais espécies do mesmo gênero.

Os compostos fenólicos parecem ter importância nas propriedades da planta, assim como de seus produtos. Folhas verdes de erva-mate apresentaram concentrações significativamente inferiores de derivados cafeoil (ácido cafeico, ácidos mono e dicafeoilquínicos), metilxantinas (cafeína e teobromina) e flavonoides (rutina, quercetina e kaempferol), quando comparadas com folhas submetidas a tratamento de sapeco, secagem e envelhecimento (ISOLABELLA et al., 2010). Os principais compostos fenólicos identificados em extratos aquosos e etanólicos da erva-mate verde foram o ácido caféico, ácido quínico, glicose cafeoil, ácido cafeoilquínico, ácido feruloilquínicos, dicafeoilquínico e rutina, porém após o processo de torra dois novos compostos foram formados: cafeoil ácido chiquímico e dicafeoilquínico (BASTOS et al., 2007)

3 ARTIGOS CIENTÍFICOS

Artigo 1: Potencial fenólico e antioxidante de ervas-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) para adição em cerveja.

Artigo 2: Elaboração de cerveja com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): características físico-químicas, potencial fenólico e antioxidante

Artigo 3: Análise sensorial de cervejas adicionadas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

ARTIGO 1:**Potencial fenólico e antioxidante de ervas-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) para adição em cerveja****Phenolic and antioxidant potential of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) for addition to beer**

Clarissa Obem dos Santos¹, Márcia Liliane Rippel Silveira¹, Marta Stochero Deprá¹, Cláudia Kaehler Sautter¹, Luisa Helena Rychecki Hecktheuer¹

¹Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM – CEP: 97105-900 – Santa Maria – RS – Brasil, Telefone: (55) 3220-8353 – e-mail: clarissa_obem@hotmail.com

RESUMO

Estudos comprovam que a erva-mate apresenta maiores teores de ácidos fenólicos, flavonoides e metilxantinas. A adição desta matéria-prima na elaboração de bebidas pode contribuir com quantidade significativa de compostos bioativos. A inserção da erva-mate no processamento da cerveja pode ser realizada em diferentes etapas, visando contribuir, principalmente, com compostos bioativos, além disso, sua adição também pode contribuir com o amargor e o aroma, tornando-a uma bebida diferenciada. O objetivo deste estudo foi avaliar os compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante de erva-mate comercial tipo chimarrão, em diferentes formas de processamento, visando sua adição em cervejas. Foram analisados seis tipos de erva-mate para chimarrão (moída grossa, pura folha, tradicional, moída grossa, especial e 100% folhas), à partir da elaboração de extratos aquosos, empregando-se rampas de temperaturas (45, 65, 73 e 100 °C), normalmente utilizadas no processo de mosturação e fervura das cervejas, e concentrações (5, 10, 15 e 20 g EM L⁻¹). Analisou-se os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante, por diferentes métodos. As ervas-mate analisadas apresentaram teores relevantes de compostos bioativos, sendo a concentração de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante diretamente proporcional a concentração de erva-mate. As temperaturas de 73 e 100 °C foram as mais indicadas para inserção de erva-mate no processamento da cerveja. Entre as ervas-mate analisadas, os extratos das do tipo moída-grossa e 100% de folhas mostraram ser mais eficientes na extração de compostos bioativos, destacando-se entre elas a composta por 100% de folhas.

Palavras-chave: Compostos Bioativos. Erva-mate. Bebida Alcoólica.

ABSTRACT

Studies show that yerba mate have higher levels of phenolic acids, flavonoids and methylxanthines. The addition of this raw material in the preparation of drinks can contribute significant amounts of bioactive compounds. The insertion of yerba mate in the beer processing can be performed at different stages in order to contribute, especially with bioactive compounds, in addition, their addition could also contribute to the bitterness and aroma, making it a different drink. The aim of this study was to evaluate the phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant capacity the commercial yerba mate type chimarrao, in different forms processing, aiming its addition in beers. They were analyzed six types of yerba mate to mate (coarse ground, pure leaf, traditional, coarse ground, special and 100% leaves), from the preparation of aqueous extracts, using temperature ramps (45, 65, 73 and 100 °C), normally used in the mashing process and boil the beer, and concentrations (5, 10, 15 and 20 g YM L⁻¹). It analyzed the contents of total phenolics, total flavonoids and antioxidant capacity, by different methods. The analyzed mate herbs present significant levels of bioactive compounds, and the concentration of total phenolics, total flavonoids and antioxidant capacity directly proportional to the concentration of yerba mate. Temperatures of 73 to 100 °C were the most suitable for yerba mate insertion in the processing of beer. Between the mate herbs analyzed the extracts of type ground-thick and 100% leaves proved to be more efficient in the extraction of bioactive compounds, standing out among them consisting of 100% leaves.

Key words: Bioactive Compounds. Yerba Mate. Alcoholic Beverage.

INTRODUÇÃO

A *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., conhecida como erva-mate, é nativa da América do Sul, com ocorrência na Argentina, Paraguai e Brasil. É consumida na forma de duas infusões quentes, o chá mate, caracterizado pela adição de água fervente sobre o material seco da planta, e o chimarrão, onde repetidas adições de água quente são realizadas sobre a erva-mate. Também pode ser utilizada na forma de tererê, uma infusão fria, realizada a partir de adições sucessivas de água fria (FILIP et al., 2000; MACHADO et al., 2007).

Isolabella et al., (2010) estudaram a variação quantitativa de derivados cafeoil (ácido caféico, ácidos mono e dicafeoilquínicos), metilxantinas (cafeína e teobromina) e flavonoides (rutina, quercetina e kampferol) durante as etapas do processamento industrial da erva-mate. Verificaram que folhas verdes de erva-mate apresentaram concentrações significativamente inferiores dos compostos analisados, quando comparadas com folhas submetidas a tratamento de sapeco, secagem e envelhecimento.

Segundo Esmelindro et al., (2002) o processamento da erva-mate para chimarrão consiste basicamente de três etapas: sapeco, secagem e cancheamento. O sapeco é realizado junto ao fogo direto e consiste na passagem rápida dos ramos com folhas sobre as chamas do sapecador. A etapa de secagem pode ser realizada em dois tipos de secadores mecânicos: rotativo e de esteira. A principal diferença entre os dois tipos de secadores está relacionada com o contato da matéria-prima com a fumaça durante o processo de secagem. O cancheamento consiste na trituração da erva após o processo de secagem. Em seguida, a erva é peneirada e o material coletado passa a denominar-se erva cancheada. Esta pode ser usada diretamente como matéria-prima para a produção de chás ou, após passar por um processo de soque, como chimarrão.

De acordo com Bizzotto et al., (2012) comercialmente a erva-mate é apresentada na forma tradicional, nativa, suave e moída grossa. A erva-mate comercial mais comum e consumida é a tradicional, composta de uma mistura de folhas e ramos de plantas de erva-mate nativas e cultivadas, normalmente na proporção de 50% cada. A erva-mate nativa é constituída unicamente de plantas nativas de erva-mate, ou com pouca adição de erva-mate cultivada, sendo caracterizada por um sabor acentuado. A erva-mate suave, é uma mistura de erva-mate nativa e cultivada, com adição de sacarose. A erva-mate moída grossa é uma mistura de plantas nativas e cultivadas, mas com tamanho de partícula maior. É caracterizada por uma maior permeabilidade a água quente entre as partículas da erva-mate, e por um gosto amargo pronunciado (MAINHART et al., 2010; BIZZOTTO et al., 2012).

No entanto, a legislação brasileira (BRASIL, 2005) não regulamenta as proporções de composição de erva-mate nativa e cultivada, a quantidade de sacarose acrescentada na erva-mate suave ou o tamanho das partículas após a moagem. Estes parâmetros são determinados pelas empresas de processamento a partir de análise sensorial (BIZZOTTO et al., 2012). Desta forma, mesmos tipos de erva-mate, de diferentes marcas podem apresentar proporções diferentes de plantas nativa e cultivada, folhas e ramos, sacarose, assim como os tamanhos de partículas.

Neste contexto, devido a erva-mate processada apresentar maiores teores de ácidos fenólicos, flavonoides e metilxantinas, a adição desta matéria-prima no processamento de outras bebidas pode contribuir com quantidade significativa de compostos bioativos, além de ampliar o seu consumo, que é restrito as áreas de cultivo.

O Brasil, é o terceiro maior produtor mundial de cerveja, com uma média de consumo *per capita* de 67 litros de cerveja/ano (KIRIN BEER UNIVERSITY, 2015). Conforme a legislação brasileira, a cerveja é definida como “a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo”, sendo que o malte e o lúpulo podem ser substituídos pelos seus extratos porém, a substituição do lúpulo ou seus derivados por outros princípios amargos não é permitida no processo de produção de cerveja. Segundo a mesma legislação, parte do malte de cevada pode ser substituída por adjuntos cervejeiros, que não devem exceder quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo, sendo considerados adjuntos a cevada cervejeira e outros cereais malteados ou não malteados, assim como amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009).

Na literatura científica não foram encontrados estudos com adição de erva-mate em bebidas alcoólicas, tão pouco estudos sobre a forma de processamento da erva-mate para incorporação no desenvolvimento de novos produtos. Sendo assim, a adição de erva-mate no processamento da cerveja pode ser realizada durante a mosturação, a fervura do mosto cervejeiro ou na maturação, visando contribuir, principalmente, com compostos bioativos, sua adição também pode contribuir com o amargor e o aroma da cerveja, tornando-a uma bebida diferenciada. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante de erva-mate comercial tipo chimarrão, em diferentes formas de processamento, visando sua adição em cervejas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram utilizadas seis amostras de erva-mate comercial tipo chimarrão: moída grossa, com adição de 30% de material foliar (MG1), pura folha, com mínimo de 80% de folhas e máximo de 20% de outras partes do ramo da erva-mate (PF), tradicional (T), moída grossa (MG2), especial, colhida de ervas nativos a cada três anos (E) e 100% folhas (F). As ervas-mate MG1 e PF, de marcas comerciais diferentes, foram adquiridas no comércio local da cidade de Santa Maria, RS. Os demais tipos de erva-mate foram adquiridos diretamente com uma indústria produtora, localizada na cidade de Ilópolis, RS. Todas as amostras de erva-mate são oriundas da safra de 2015 e foram mantidas na sua embalagem original, em temperatura ambiente, até o momento das análises.

Delineamento experimental

Foram realizados dois experimentos, o primeiro com o objetivo de otimizar a temperatura para extração de compostos bioativos e o segundo, visando a seleção do melhor tipo de erva-mate para incorporação na cerveja. Em ambos os experimentos foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) para avaliar três fatores: temperatura, concentração e tipo de erva-mate, em três repetições e análises em triplicatas.

No primeiro experimento, as amostras de erva-mate comercial dos tipos moída grossa (MG1) e pura folha (PF) foram extraídas em meio aquoso nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 gramas de erva-mate por litro (g EM L^{-1}), submetidos a quatro rampas de temperaturas (45, 65, 73 e 100 °C).

No segundo experimento, foram analisadas as demais amostras de ervas-mate comerciais: tradicional (T), moída grossa (MG2), especial (E) e 100% folhas (F). Foram elaborados extratos aquosos nas mesmas concentrações do primeiro experimento (5, 10, 15 e 20 g EM L^{-1}) porém, estes foram submetidos as rampas de temperaturas de 73 e 100 °C, tendo em vista que foram as melhores temperaturas de extração do primeiro experimento.

Elaboração dos extratos

As extrações foram realizadas em banho-maria (Marconi[®] MA-093), empregando-se rampas de temperaturas de 45, 65, 73 e 100 °C (Figura 1), utilizadas na elaboração de cervejas nas etapas de mosturação e fervura do mosto cervejeiro (VENTURINI FILHO, 2010). Os extratos A foram elaborados de acordo com a rampa de temperatura apresentado na Figura 1A. Primeiramente ocorreu aquecimento da água destilada até 45 °C, seguida da adição da erva-mate, posteriormente os extratos foram aquecidos 1 °C por minuto até 55, 65 e 73 °C permanecendo constante por 30 minutos e a 100 °C por 35 minutos. Da mesma forma, os extratos B (Fig. 1B) e C (Fig. 1C) seguiram a rampa de temperatura do extrato A, a partir das temperaturas de 65 e 73 °C, respectivamente. Os extratos D (Fig. 1D) permaneceram em fervura por 5 min a 100 °C. Por fim, os extratos obtidos foram filtrados e armazenados sob abrigo da luz a – 18 °C até o momento das análises.

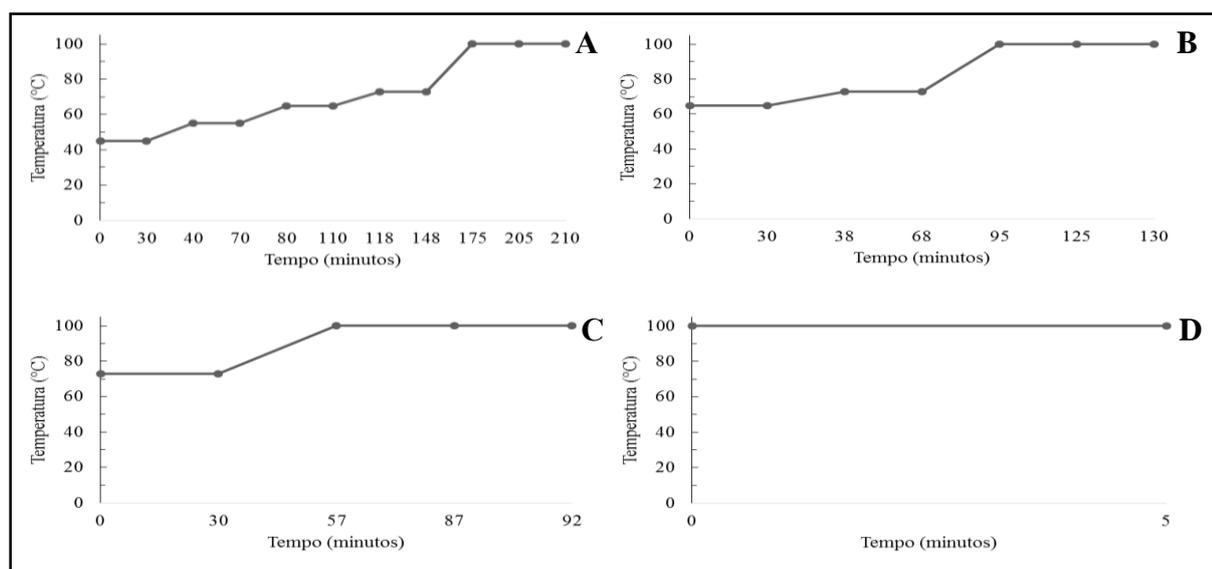


Figura 1 - Rampas de temperaturas e tempo do processo de extração de compostos da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). A: extrato obtido ao final da rampa de 45 °C; B: extrato obtido ao final da rampa de 65 °C; C: extrato obtido ao final da rampa de 73 °C; D: extrato obtido à 100 °C.

A rampa de temperatura até 73 °C utilizada para a elaboração dos extratos aquosos é utilizada no processamento da cerveja na etapa de mosturação, nesta ocorre a degradação de amido por enzimas presentes no malte, em açúcares fermentescíveis, seguida de clarificação e fervura do mosto cervejeiro (100 °C). No início da fervura é adicionado o lúpulo de amargor e ao final desta etapa, adiciona-se o lúpulo aromático.

Compostos fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais dos extratos de erva-mate produzidos resultou da reação de oxirredução com o reagente de Folin-Ciocalteu, o qual reage com as hidroxilas presentes nos polifenóis. As leituras em triplicata da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) em comprimento de onda de 765 nm, após duas horas ao abrigo da luz, conforme o método de Singleton e Rossi (1965). Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 0 a 80 mg L⁻¹ para construir uma curva de calibração (Concentração dos compostos fenólicos = 85,939 x absorbância - 3,7811; R² = 0,9978). Os resultados obtidos foram expressos em gramas de equivalentes de ácido gálico por litro (g EAG L⁻¹).

Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi analisado pelo método colorimétrico descrito por Zhishen; Mengcheng; Jianming (1999). As leituras das amostras foram realizadas em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus), em comprimento de onda de 510 nm. O teor de flavonoides foi determinado utilizando-se uma curva padrão de catequina (0-200 mg L⁻¹) e os resultados determinados a partir de uma equação de regressão (Concentração do teor de flavonoides = 357,64 x absorbância - 1,2829; R² = 0,9949), expressos em gramas de equivalentes de catequina por litro (mg CAT L⁻¹).

Capacidade antioxidante *in vitro*

Método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Para a determinação da capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) foi utilizado o procedimento descrito por Benzie e Strain (1996). Este ensaio se baseia na medida direta de habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe³⁺/tripiridiltriazina (TPTZ), para formar Fe²⁺, de intensa cor azul e absorção máxima a 593 nm.

A absorbância da mistura de reação foi medida em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus), após incubação em banho-maria a 37 °C durante 30 min. O Trolox (1 mM) foi utilizado como padrão para construir uma curva de calibração (Concentração de Trolox

= $0,2168 \times \text{absorbância} - 0,0046$; $R^2 = 0,9967$), nas concentrações de 0 a 0,200 mM de Trolox sendo os resultados expressos em mM de TEAC por litro (mM TEAC L^{-1}) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico)

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical $\text{ABTS}\bullet+$, utilizou-se a metodologia descrita por Re et al., (1999). Esse método baseia-se na geração do $\text{ABTS}\bullet+$, que apresenta cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio, sendo que com a adição de um antioxidante ocorre a redução do $\text{ABTS}\bullet+$ a ABTS, promovendo a perda de coloração do meio reacional. A absorbância foi monitorada em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO[®] 600 plus) a 750 nm, após 6 minutos de reação.

O antioxidante sintético Trolox (1mM) foi utilizado nas concentrações de 0 a 0,200 mM em etanol, para a construção de uma curva de calibração (% desativação da absorbância corrigida = $499,26 \times \text{capacidade de desativar o } \text{ABTS}\bullet+ \text{ em mM TEAC L}^{-1} - 0,5309$; $R^2 = 0,9985$). Todas as leituras foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mM de TEAC por litro (mM TEAC L^{-1}) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

A metodologia utilizada foi descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) com algumas adaptações. O método tem por base a redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil ($\text{DPPH}\bullet+$) por antioxidantes da amostra produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm, após serem mantidas por 24 horas no escuro à temperatura ambiente.

As medidas das absorbâncias foram efetuadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO[®] 600 plus) a 517 nm contra um branco de controle. A concentração do DPPH foi calculada a partir de uma equação de regressão (Concentração de Trolox = $0,0045 \times \% \text{ de inibição da absorbância corrigida} - 0,0118$; $R^2 = 0,9919$) utilizando-se o Trolox como padrão, nas concentrações de 0 a 0,250 mM. Os resultados foram expressos em mM de TEAC por litro (mM TEAC L^{-1}) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Análise estatística

Os dados obtidos são apresentados como média \pm desvio-padrão e foram submetidos à análise multivariada (MANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com auxílio do *software* Statistica, versão 7.0 (StatSoft Inc., 1984-2004, Tulsa, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a finalidade de contribuir com compostos bioativos na cerveja, estudou-se a melhor etapa para inserção da erva-mate no processamento da bebida alcoólica. Temperaturas e tempos, normalmente utilizados na elaboração do mosto cervejeiro nas etapas de mosturação e fervura, assim como diferentes concentrações e tipos de erva-mate comerciais para chimarrão, foram utilizados na elaboração de extratos aquosos.

Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos aquosos das ervas-mate moída grossa (MG1) e pura folha (PF) empregando-se as temperaturas de 45, 65, 73 e 100 °C, nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 gramas de erva-mate por litro (g EM L⁻¹) de extrato são apresentados na Tabela 1. Observa-se, em todas as temperaturas, que quanto maior a concentração de erva-mate maiores os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais. A erva-mate MG1 apresentou maior teor de compostos fenólicos quando utilizou-se 20 g EM L⁻¹ e uma rampa de temperatura à partir de 73 °C (2,19 g EAG L⁻¹), entretanto esta não diferiu da temperatura de 45 °C (2,10 g EAG L⁻¹). Nas rampas de temperaturas de 65 e 100 °C, com a mesma concentração de erva-mate (20 g EM L⁻¹), observou-se que os teores de compostos fenólicos (2,02 e 1,98 g EAG L⁻¹, respectivamente) não apresentaram diferença significativa.

Em relação a erva-mate PF o maior teor de compostos fenólicos foi verificado na concentração de 20 g EM L⁻¹, na rampa de temperatura com início à 45 °C (2,48 g EAG L⁻¹), entretanto esta não diferiu das temperaturas de 65 (2,45 g EAG L⁻¹) e 73 °C (2,45 g EAG L⁻¹), estas temperaturas diferiram estatisticamente do extrato à 100 °C (2,20 g EAG L⁻¹).

Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, das ervas-mate MG1 e PF, nas concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹ diferiram entre si em cada rampa de temperatura analisada, entretanto quando analisadas somente a concentração de 5 ou 10 g EM L⁻¹, observa-se que são iguais em todas as rampas de temperaturas.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados da capacidade antioxidante, pelos métodos de FRAP, ABTS e DPPH, dos extratos aquosos das ervas-mate MG1 e PF. O mesmo

comportamento apresentado para os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais foi observado para a capacidade antioxidante, independentemente do método analisado e da temperatura, quanto maior a concentração de erva-mate, maior a capacidade antioxidante.

As ervas-mate MG1 e PF apresentaram comportamentos diferentes de acordo com o método de capacidade antioxidante analisado. No método FRAP, nas ervas-mate MG1 e PF, a capacidade antioxidante foi significativamente maior nos extratos com 20 g EM L⁻¹, exceto para a erva-mate MG1 à 100 °C que não diferiu da temperatura de 65 °C, com 15 g EM L⁻¹.

No método ABTS as maiores capacidades antioxidantes ($p > 0,05$) da erva-mate MG1 foram observadas nos extratos à 65 e 73 °C (20 g EM L⁻¹), estas temperaturas diferiram de 45 e 100 °C. A maior capacidade antioxidante da erva-mate PF foi observada no extrato à 73 °C (20 g EM L⁻¹), com diferença significativa das temperaturas de 45 e 100 °C.

No método DPPH, os extratos aquosos da erva-mate MG1, nas temperaturas de 73 e 100 °C (20 g EM L⁻¹) apresentaram a maior capacidade antioxidante, diferindo significativamente das demais concentrações e temperaturas analisadas, porém não diferiram entre si. Já para a erva-mate PF, o extrato com 20 g EM L⁻¹, analisado na rampa de temperaturas de 65 °C apresentou a maior capacidade antioxidante, embora não tenha diferido das rampas de temperatura de 45, 73 e 100 °C.

De acordo com os resultados obtidos no primeiro experimento, as temperaturas de 73 e 100 °C, seriam as mais indicadas para inserção de erva-mate na cerveja, pois em menos tempo conseguiram extrair quantidade semelhante de compostos fenólicos quando comparadas com rampas que utilizam temperaturas menores por um maior período. Silveira et al., (2014) obtiveram teor máximo do flavonoide rutina em bebida de chá mate quando realizaram uma infusão com 2% de erva-mate à 72 °C, por nove minutos.

No processamento da cerveja, na temperatura de 73 °C, ao final da mosturação, é realizada a etapa de desdobramento do amido pela enzima α -amilase, seguida da clarificação do mosto cervejeiro, onde é retirado o resíduo de cascas de malte. Posteriormente, durante a fervura (100 °C), ocorre a adição de lúpulo de amargor no início do processo e lúpulo aromático ao final da etapa. A inserção da erva-mate na cerveja nestas temperaturas possivelmente contribuirá com quantidade significativa de compostos fenólicos contribuindo com compostos bioativos no produto final.

Na Tabela 3 são apresentados os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais dos extratos aquosos das ervas-mate tradicional (T), moída grossa (MG2), especial (E) e folhas (F), analisadas nas temperaturas de 73 e 100 °C e nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 g EM L⁻¹. Os extratos das ervas-mate estudadas T, E e F na temperatura de 73 °C, e da erva-mate

MG2 à 100 °C, ambos na concentração de 20 g L⁻¹, apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos, diferindo estatisticamente das demais concentrações de erva-mate. A erva-mate MG2, por ser composta de uma mistura de folhas e ramos na forma de pó e partículas maiores, pode ter favorecido a extração de compostos fenólicos quando utilizou-se maior temperatura por menos tempo.

Santos et al., (2014) ao analisarem extratos aquosos de diferentes tipos de ervas-mate comerciais, observaram que os extratos da erva-mate moída grossa apresentaram os maiores teores de polifenóis totais quando submetidos a extração por 10 e 30 minutos à 85 °C. Entretanto, 30 minutos de extração favoreceram a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais, quando comparado com o tempo de 10 minutos. Neste estudo, a adição de material foliar de maior granulometria e pedúnculos, além de pó de erva-mate, foram atribuídos como os responsáveis ao maior teor fenólico desta erva-mate em relação as demais estudadas.

Em relação aos flavonoides totais, todos os extratos de erva-mate na temperatura de 73 °C e na concentração de 20 g L⁻¹, apresentaram teores significativamente maiores, exceto para a erva-mate MG2, que foi estatisticamente igual a temperatura de 100 °C, na mesma concentração.

Entre as ervas-mate estudadas, a composta por 100% de folhas (F) apresentou maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais na temperatura de 73 °C, para todas as concentrações analisadas. Entretanto, a 100 °C os maiores teores foram verificados para a erva-mate MG2, possivelmente devido a sua composição.

Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, das ervas-mate T, MG2, E e F, nas concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹ diferiram entre si nas temperaturas de 73 e 100 °C, entretanto quando analisadas somente a concentração de 5 ou 10 g EM L⁻¹, observa-se que são iguais em todas temperaturas, exceto para a erva-mate F nos teores de flavonoides totais.

Os resultados da capacidade antioxidante dos extratos elaborados com as ervas-mate do segundo experimento são apresentados na Tabela 4. Em todos os tipos de ervas-mate e temperaturas analisadas observa-se que, quanto maior a concentração de erva-mate, maior a capacidade antioxidante. Como observado anteriormente no primeiro experimento, os extratos de erva-mate apresentaram comportamentos diferentes de acordo com os métodos de capacidade antioxidante utilizados.

Pelos métodos FRAP e DPPH, na temperatura de 73 °C destaca-se maior capacidade antioxidante para a erva-mate composta por 100% de folhas (F), em todas as concentrações analisadas. No método de ABTS as ervas-mate F nas concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹ e a T com 15 e 20 g EM L⁻¹ apresentaram a maior capacidade antioxidante à 73 °C (p>0,05).

Na temperatura de 100 °C, mostraram-se mais antioxidantes, pelo método FRAP a erva-mate MG2 (5 e 10 g EM L⁻¹) e a T (15 e 20 g EM L⁻¹), no método ABTS a erva-mate MG2 (5, 10 e 20 g EM L⁻¹) e a F (15 g EM L⁻¹) e, no método DPPH a erva-mate MG2, em todas as concentrações (p>0,05).

Apesar de diferirem conforme o método analisado, todos os tipos de erva-mate para chimarrão analisados neste estudo apresentaram alta capacidade antioxidante. Filip et al., (2000) observaram um maior potencial antioxidante da erva-mate quando comparada a diferentes espécies de *Ilex* consumidas na América do Sul. Em outro estudo Filip et al (2001) verificaram para a mesma espécie, maiores teores de fenólicos derivados de cafeoil e flavonoides, quando comparada com espécies do mesmo gênero.

Freitas et al., (2006), ao analisarem quatorze amostras de cervejas comerciais verificaram que os teores de polifenóis totais foram de 0,40 g EAG L⁻¹ para cerveja de trigo clara, 0,79 a 0,81 g EAG L⁻¹ para cerveja de trigo escura, 0,25 a 0,54 g EAG L⁻¹ com cevada clara, 0,43 a 0,73 g EAG L⁻¹ com cevada escura e 0,44 g EAG L⁻¹ para a elaborada com cevada clara orgânica. Estes resultados quando comparados com os valores encontrados nos extratos aquosos do presente trabalho, demonstram que apenas 5 g EM L⁻¹, apresentam teores semelhantes e até mesmo superiores aos encontrados nas cervejas, indicando o alto potencial fenólico dos extratos aquosos de erva-mate, quando comparados com a cerveja.

Na literatura, estudos comprovam o alto potencial fenólico e antioxidante em extratos de erva-mate. Em estudo realizado por Bastos et al., (2007), extratos aquosos de erva-mate verde e tostada apresentaram teores de compostos fenólicos semelhantes quando comparados com chá verde (*Camellia sinensis*), 7,73; 6,71 e 7,15 mg mL⁻¹, respectivamente. Porém, extratos etanólicos de chá verde apresentaram teores significativos de compostos fenólicos (13,08 mg mL⁻¹), em relação a erva-mate verde (3,80 mg mL⁻¹) e tostada (2,83 mg mL⁻¹). Em relação a atividade antioxidante extratos aquosos e etanólicos de erva mate verde e tostada apresentaram atividade antioxidante semelhante à do chá verde. Os principais compostos fenólicos identificados nos extratos aquosos e etanólicos da erva-mate verde foram o ácido caféico, ácido quínico, glicose cafeoil, ácido cafeoilquínico, ácido feruloilquínico, dicafeoilquínico e rutina, porém após o processo de torra dois novos compostos foram formados: cafeoil ácido chiquímico e dicafeoilquínico (BASTOS et al., 2007).

Bassani, Nunes e Granato (2014), maximizaram a extração de fenólicos e flavonoides totais bem como a atividade antioxidante de erva-mate tostada (*Ilex paraguariensis*) frente ao radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH) em função do tempo (5; 7,5 e 10 min) e a temperatura de extração (60, 75 e 90 °C). Os autores verificaram que as condições ótimas para

maximizar a extração de compostos antioxidantes foi de 10 min a 90 °C. O chá preparado sob estas condições apresentou 427,74 mg de equivalentes de ácido gálico por litro, 80,02% de inibição do radical DPPH e teor de flavonoides altamente correlacionado com a atividade antioxidante.

Asolini et al., (2006) analisaram extratos aquosos e etanólicos de chás de arruda (*Ruta graveolens*), camomila (*Matricaria chamomilla*), macela (*Achyrocline satureioides*), alcachofra (*Cynara scolymus*), erva-mate (*Ilex paraguariensis*), tanchagem (*Plantago major*), malva (*Malva silvestris*), sálvia (*Salvia officinalis*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*). A quantidade de compostos fenólicos totais nos extratos aquosos dos chás variou de 18 a 145 mg EAG g⁻¹ de folha seca, sendo a maior quantidade de compostos fenólicos encontrado na erva-mate. O extrato etanólico de erva-mate apresentou menor teor de compostos fenólicos e menor atividade antioxidante quando comparado ao extrato aquoso.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados, conclui-se que as ervas-mate tipo chimarrão apresentam teores relevantes de compostos bioativos, sendo a concentração de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante diretamente proporcional a concentração de erva-mate.

As temperaturas de 73 e 100 °C são as mais indicadas para inserção de erva-mate no processamento da cerveja, pois em menos tempo conseguem extrair quantidade semelhante de compostos fenólicos quando comparadas com rampas que utilizam temperaturas menores por um maior período.

Os extratos das ervas-mate dos tipos moída-grossa e 100% de folhas proporcionam maior extração de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, além de alta capacidade antioxidante, possivelmente devido à presença de material foliar de maior granulometria na sua composição. Entre essas ervas-mate, a mais indicada para inserção no processamento da cerveja é a composta por 100% de folhas, por não possuir pó na sua composição, o que contribui para a limpidez da cerveja no processo de clarificação do mosto.

REFERÊNCIAS

- ASOLINI, F. C. et al. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.
- BASSANI, D. C.; NUNES, D. S.; GRANATO, D. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba-mate leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using response surface methodology. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 2, p. 923-933, 2014.
- BASTOS, D. H. et al. Phenolic antioxidants identified by EST-MS from yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 423-432, 2007.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.
- BIZZOTTO, C. S. et al. Quantification of phenolic compounds by capillary zone electrophoresis in extracts of four commercial types of mate herb before and after acid hydrolysis. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 763-768, 2012.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.22, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Decreto n. 6.871 de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2009.
- BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº. 277, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis” **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 22 set. 2005.
- ESMELINDRO, M. C. et al. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 193-204, 2002.
- FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p.1437-1446, 2000.
- FILIP, R. et al. Phenolic compounds in seven south american *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n.7, p.774-778, 2001.
- FREITAS, G. L. et al. Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH*. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.303-307, jul./set. 2006.
- KIRIN BEER UNIVERSITY. **Global Beer Consumption**.

Disponível em: <<http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/index.html>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

ISOLABELLA, S. et al. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 695-699, 2010.

MACHADO, C. C. B. et al. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 513-518, 2007.

MEINHART, A. D. et al. Methylxanthines and Phenolics Content Extracted during the Consumption of Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) Beverages. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2188-2193, 2010.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

SANTOS, C. O. et al. Caracterização, teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em diferentes tipos de erva-mate para chimarrão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 1, p. 77-86, 2014.

SILVEIRA, T. F. F. et al. The effect of the duration of infusion, temperature, and water volume on the rutin content in the preparation of mate tea beverages: An optimization study. **Food Research International**, v. 60, p. 241-245, 2014.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. vol.1. São Paulo: Blucher, p. 15- 50, 2010.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.

Tabela 1 - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em extratos aquosos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.

Rampas de temperaturas	Concentrações (g EM L ⁻¹)	Compostos fenólicos totais (g EAG L ⁻¹)	
		MG1	PF
A	5	0,63±0,02fA	0,59±0,02fB
	10	1,14±0,01eA	1,04±0,03eB
	15	1,58±0,10cdB	1,88±0,03cA
	20	2,10±0,08abB	2,48±0,03aA
B	5	0,63±0,02fA	0,59±0,03fA
	10	1,12±0,03eA	1,09±0,03eA
	15	1,57±0,05cdB	1,89±0,10cA
	20	2,02±0,04bB	2,45±0,05aA
C	5	0,63±0,02fA	0,60±0,01fA
	10	1,11±0,02eA	1,11±0,02eA
	15	1,68±0,03cB	1,92±0,07cA
	20	2,19±0,10aB	2,45±0,03aA
D	5	0,60±0,01fA	0,59±0,01fA
	10	1,07±0,03eA	1,08±0,03eA
	15	1,43±0,04dB	1,75±0,07dA
	20	1,98±0,06bB	2,20±0,04bA
Flavonoides totais (g CAT L ⁻¹)			
A	5	0,60±0,03fB	0,67±0,02gA
	10	1,19±0,01eA	1,28±0,10fA
	15	1,82±0,06cdA	1,87±0,07eA
	20	2,51±0,04aB	2,81±0,06abA
B	5	0,62±0,02fB	0,68±0,02gA
	10	1,11±0,05eB	1,34±0,02fA
	15	1,91±0,09cA	2,04±0,05deA
	20	2,48±0,05aB	2,75±0,03bcA
C	5	0,59±0,03fB	0,69±0,00gA
	10	1,10±0,05eB	1,32±0,07fA
	15	1,71±0,13dB	2,13±0,02dA
	20	2,55±0,09aB	2,96±0,12aA
D	5	0,61±0,02fA	0,62±0,02gA
	10	1,07±0,01eB	1,25±0,01fA
	15	1,79±0,04cdA	1,91±0,08eA
	20	2,30±0,06bB	2,56±0,05cA

A: 45 °C; B: 65 °C; C: 73 °C; D: 100 °C. MG1: erva-mate moída grossa, PF: erva-mate pura folha. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre as temperaturas e as concentrações de cada tipo de erva-mate, letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre a temperatura, a concentração e os tipos de erva-mate, pelo teste de Tukey (p≤0,05) n = 9.

Tabela 2 - Capacidade antioxidante por diferentes métodos em extratos aquosos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.

Rampas de temperaturas	Concentrações (g EM L ⁻¹)	FRAP (mM TEAC L ⁻¹)		ABTS (mM TEAC L ⁻¹)		DPPH (mM TEAC L ⁻¹)	
		MG1	PF	MG1	PF	MG1	PF
A	5	5,50±0,46eB	6,34±0,05dA	4,13±0,13fA	3,97±0,27gA	0,58±0,07iB	1,21±0,05deA
	10	11,12±0,46dB	12,62±0,53cA	6,84±0,41eA	6,18±0,25efgA	1,19±0,05ghB	2,35±0,16cA
	15	14,84±0,88cB	18,22±0,81bA	14,17±0,42dA	12,58±1,43cdA	2,07±0,16eB	4,77±0,26bA
	20	20,36±1,64aB	25,45±0,73aA	17,48±0,62bcA	15,37±1,73bA	2,96±0,24cdB	5,46±0,10aA
B	5	5,94±0,09eA	5,83±0,38dA	4,19±0,13fA	4,37±0,31fgA	0,73±0,06hiB	1,26±0,06dA
	10	11,01±0,47dA	12,28±0,95cA	5,77±0,09efA	6,46±0,61efA	1,48±0,19fgB	2,30±0,10cA
	15	17,06±1,85bcA	19,03±0,91bA	14,75±0,76dA	11,36±0,45dB	2,91±0,26dB	4,84±0,13bA
	20	21,02±1,03aB	25,88±2,20aA	20,83±0,77aA	16,04±0,78abB	3,58±0,06bB	5,51±0,09aA
C	5	5,67±0,24eA	6,29±0,36dA	4,11±0,04fB	4,51±0,05efgA	0,84±0,01hiB	1,26±0,07dA
	10	10,24±0,27dB	12,62±0,16cA	6,15±0,30eA	6,62±0,22efA	1,60±0,05efgB	2,40±0,03cA
	15	16,31±0,79cA	19,81±2,09bA	16,00±1,22cdA	13,31±0,22bcdA	3,46±0,07bcB	4,84±0,11bA
	20	21,93±0,86aA	24,83±1,98aA	20,15±0,76aA	17,94±0,56aB	4,37±0,20aB	5,46±0,28aA
D	5	5,68±0,15eA	6,06±0,27dA	4,39±0,20fA	4,04±0,05gB	0,96±0,06hiA	0,82±0,01eB
	10	10,55±0,10dB	12,25±0,24cA	6,03±0,27efA	6,76±0,82eA	1,85±0,03efB	2,23±0,11cA
	15	16,43±1,73cA	19,37±1,13bA	15,15±0,37dA	11,65±1,11dB	3,83±0,34bB	4,71±0,12bA
	20	19,55±1,37abB	23,34±0,53aA	18,17±0,48bA	14,49±0,79bcB	4,64±0,28aB	5,45±0,17aA

A: 45 °C; B: 65 °C; C: 73 °C; D: 100 °C. MG1: erva-mate moída grossa, PF: erva-mate pura folha. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre as temperaturas e as concentrações de cada tipo de erva-mate, letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre a temperatura, a concentração e os tipos de erva-mate, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) $n = 9$.

Tabela 3 - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em extratos aquosos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.

Rampas de temperaturas	Concentrações (g EM L ⁻¹)	Compostos fenólicos totais (g EAG L ⁻¹)			
		T	MG2	E	F
A	5	0,56±0,02eB	0,59±0,04eAB	0,57±0,03eB	0,66±0,01eA
	10	1,14±0,02dB	1,09±0,03dB	1,16±0,04dB	1,29±0,06dA
	15	2,04±0,09bB	1,78±0,06cC	1,93±0,10bcBC	2,38±0,04bA
	20	2,54±0,12aAB	2,11±0,04bC	2,29±0,20aBC	2,79±0,09aA
B	5	0,48±0,06eA	0,54±0,06eA	0,52±0,01eA	0,51±0,01eA
	10	1,02±0,04dB	1,14±0,01dA	1,04±0,02dB	1,04±0,03dB
	15	1,50±0,23cB	1,91±0,04bcAB	1,65±0,18cAB	1,98±0,19cA
	20	1,77±0,04bcB	2,83±0,31aA	2,09±0,10abB	2,30±0,14bB
		Flavonoides totais (g CAT L ⁻¹)			
A	5	0,55±0,01fBC	0,59±0,02dB	0,53±0,03eC	0,66±0,00eA
	10	1,12±0,02eB	1,09±0,04cB	1,05±0,05dB	1,26±0,02cA
	15	1,68±0,02cB	1,64±0,12bB	1,72±0,08bAB	1,96±0,12bA
	20	2,27±0,10aB	2,09±0,02aB	2,23±0,11aB	2,70±0,07aA
B	5	0,53±0,05fA	0,54±0,04dA	0,49±0,02eAB	0,44±0,02fB
	10	0,95±0,03eB	1,04±0,03cA	1,00±0,02dAB	0,94±0,02dB
	15	1,46±0,13dA	1,54±0,09bA	1,48±0,02cA	1,43±0,09cA
	20	1,92±0,07bA	2,10±0,16aA	1,87±0,13bA	1,88±0,09bA

A: 73 °C; B: 100 °C. T: erva-mate tradicional; MG2: erva-mate moída grossa; E: erva-mate especial; F: erva-mate 100% folhas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre as temperaturas e as concentrações de cada tipo de erva-mate, letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre a temperatura, a concentração e os tipos de erva-mate, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) $n = 9$.

Tabela 4 - Capacidade antioxidante por diferentes métodos em extratos aquosos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) submetidos a diferentes rampas de temperaturas e concentrações.

Rampas de temperaturas	Concentrações (g EM L ⁻¹)	FRAP (mM TEAC L ⁻¹)			
		T	MG2	E	F
A	5	8,39±0,08dC	9,53±0,33dB	8,65±0,38deC	10,58±0,12dA
	10	11,93±0,63cAB	12,62±0,47cdAB	11,16±0,40dB	13,21±0,61cdA
	15	17,79±1,22bAB	18,61±1,31bA	15,31±0,97cB	20,61±0,69bA
	20	22,73±0,48aA	25,09±1,65aA	23,39±2,00aA	27,53±2,18aA
B	5	8,40±0,87dAB	8,93±0,69dA	7,23±0,52eAB	6,86±0,20eB
	10	10,87±1,30cdA	12,03±0,22cdA	9,65±0,07deA	11,54±0,62cdA
	15	16,34±2,45bA	16,10±0,90bcA	14,66±0,85cA	14,60±0,37cA
	20	23,20±1,33aA	22,98±1,80aA	18,71±0,49bB	19,92±1,51bAB
ABTS (mM TEAC L ⁻¹)					
A	5	2,63±0,09eA	2,66±0,07eA	2,58±0,27eA	2,94±0,17dA
	10	4,99±0,11dAB	4,58±0,15dC	4,85±0,06dBC	5,16±0,07cA
	15	9,50±0,30bA	7,42±0,63cB	8,92±0,67bA	8,19±0,38bAB
	20	11,08±0,15aA	10,11±0,11bB	10,28±0,52aAB	11,07±0,18aA
B	5	2,58±0,08eA	2,79±0,09eA	2,59±0,09eA	2,59±0,19dA
	10	4,54±0,25dA	4,96±0,10dA	4,56±0,11dA	4,78±0,15cA
	15	8,04±0,57cA	8,38±0,58cA	7,82±0,45cA	8,63±0,54bA
	20	10,64±0,30aAB	11,89±0,94aA	9,92±0,25abB	10,92±0,08aAB
DPPH (mM TEAC L ⁻¹)					
A	5	0,43±0,06dB	0,47±0,00deAB	0,41±0,03deB	0,55±0,02dA
	10	0,95±0,05bcAB	0,84±0,11cdB	0,89±0,03cAB	1,04±0,03cA
	15	1,23±0,41abA	1,26±0,01abA	0,97±0,06bcA	1,49±0,14bA
	20	1,50±0,16aAB	1,55±0,36aAB	1,44±0,08aB	1,99±0,02aA
B	5	0,34±0,02dB	0,39±0,02eA	0,33±0,00eB	0,31±0,01eB
	10	0,62±0,03cdA	0,74±0,07cdeA	0,64±0,05cdeA	0,72±0,07dA
	15	0,96±0,08bcAB	0,98±0,06bcA	0,74±0,06cdB	0,97±0,11cA
	20	1,21±0,10abA	1,45±0,06aA	1,37±0,40abA	1,37±0,07Ba

A: 73 °C; B: 100 °C. T: erva-mate tradicional; MG2: erva-mate moída grossa; E: erva-mate especial; F: erva-mate 100% folhas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem a diferenças significativas entre as temperaturas e as concentrações de cada tipo de erva-mate, letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem a diferenças significativas entre a temperatura, a concentração e os tipos de erva-mate, pelo teste de Tukey (p≤0,05) n = 9.

ARTIGO 2:

Elaboração de cerveja com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): características físico-químicas, potencial fenólico e antioxidante

Preparation of beer with the addition of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.): Physical and chemical characteristics, phenolic and antioxidant potential

Clarissa Obem dos Santos¹, Márcia Liliane Rippel Silveira¹, Marta Stochero Deprá¹, Cláudia Kaehler Sautter¹, Luisa Helena Rychecki Hecktheuer¹

¹Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM – CEP: 97105-900 – Santa Maria – RS – Brasil, Telefone: (55) 3220-8353 – e-mail: clarissa_obem@hotmail.com

RESUMO

A cerveja é uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, nas etapas de processamento, como na fervura e na maturação, matérias-primas podem ser empregadas com a finalidade de contribuir para a qualidade fenólica, físico-química e sensorial ao produto final. A erva-mate é tradicionalmente consumida na forma de infusões, sua constituição química apresenta riqueza de compostos bioativos. O objetivo deste trabalho foi elaborar cervejas com adição de erva-mate, em diferentes concentrações e etapas do processamento, e acompanhar o comportamento físico-químico, os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante durante o armazenamento das bebidas alcoólicas. Foram elaboradas três formulações de cervejas com adição de erva-mate tipo chimarrão, composta por 100% de folhas. Tratamento 1, adição no início da etapa de fervura do mosto, Tratamento 2, adição no final da etapa de fervura do mosto e Tratamento 3, adição na maturação das bebidas alcoólicas, além de uma formulação controle. Cada tratamento foi elaborado com quatro concentrações de erva-mate, 5, 10, 15 e 20 g EM L⁻¹. As cervejas foram avaliadas nos dias 1, 90 e 180 de armazenamento, quanto as análises de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, capacidade antioxidante, pelos métodos de FRAP, ABTS e DPPH, cor, amargor, sólidos solúveis totais, teor de espuma, pH, acidez total titulável, extrato real e primitivo. Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais das cervejas foram proporcionais a concentração de erva-mate, o mesmo foi observado para os métodos de capacidade antioxidante analisados, com destaque para o Tratamento 1, podendo ser armazenadas durante 180 dias, sem decréscimo dos valores. Em relação a cor, concentrações maiores de erva-mate na fervura tendem a estabilização, quando adicionada na maturação os teores foram proporcionais a sua concentração. O teor de amargor apresentou valores inferiores quando adicionou-se erva-mate na maturação das cervejas. A adição de 15 e 20 g EM L⁻¹ nas bebidas alcoólicas influenciou no comportamento dos teores de SST, ATT, etanol, extrato real e extrato primitivo. Desta forma, cervejas adicionadas de 5 e 10 g EM L⁻¹, nas etapas de fervura e maturação, apresentam potencial fenólico, antioxidante e características físico-químicas relevantes para a indústria de bebidas alcoólicas, constituindo uma nova proposta para a indústria cervejeira.

Palavras-chave: Bebida Alcoólica. Erva-mate. Compostos Bioativos. Vida de prateleira.

ABSTRACT

Beer is a beverage obtained by alcoholic fermentation of beer wort, the processing steps as in the boil and maturation, raw materials may be employed in order to contribute to the phenolic quality physicochemical and sensory the final product. Yerba mate is traditionally consumed in the form of infusions, their chemical constitution has wealth of bioactive compounds. This study was prepared beers with addition of yerba mate in different concentrations and processing steps, and follow the physicochemical behavior, the contents of total phenolics, total flavonoids and antioxidant capacity for the storage of alcoholic beverages. Three beers formulations were prepared with the addition of yerba mate chimarrao type, consisting of 100% leaves. Treatment 1, added at the start of the wort boiling step, Treatment 2, adding at the end of the wort boiling step and Treatment 3, in addition maturing alcoholic beverages in addition to a control formulation. Each treatment was prepared with four yerba mate concentrations, 5, 10, 15 and 20 g YM L⁻¹. The beers were evaluated on days 1, 90 and 180 store, as the analysis of phenolic compounds, total flavonoid antioxidant capacity by methods FRAP, ABTS and DPPH color, bitterness, total soluble solids, foaming, pH, titratable total acidity, real and original extract. The contents of total phenolic compounds and total flavonoids beers were proportional yerba mate concentration, the same was observed for the methods of antioxidant capacity analyzed, highlighting the Treatment 1 and can be stored for 180 days without a decrease of values. In relation to color, yerba mate highest concentrations in boiling tend to stabilize when added to the maturation the levels were proportional to their concentration. The bitterness content showed lower values when yerba mate was added in the maturation of beer. The addition of 15 and 20 g YM L⁻¹ in alcoholic beverages affect the behavior of TSS, TTA, ethanol, real extract and original extract. Thus, beers added to 5 and 10 g YM L⁻¹ in steps of boiling and maturation, have phenolic potential, antioxidant and physicochemical characteristics relevant to the alcohol industry, constituting a new proposal for the brewing industry.

Key words: Alcoholic Beverage. Yerba Mate. Bioactive Compounds. Shelf Life.

INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define cerveja como uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, oriundo do malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo, podendo ser adicionada de até quarenta e cinco por cento de adjuntos (BRASIL, 2009). O processamento desta bebida alcoólica é composto pelas etapas de malteação (maceração, germinação, secagem e tostagem da cevada); mosturação (produção do mosto cervejeiro, etapa em que ocorre a extração e hidrólise dos componentes da cevada malteada, seguido de uma separação dos componentes insolúveis e posterior fervura com a adição de lúpulo); fermentação (dividida em primária e maturação); e processamento final (filtração, estabilização, engarrafamento e pasteurização) (LINKO et al., 1998; REBELLO, 2009).

Conforme Bamforth (2002) a cerveja é fonte de folatos e outras vitaminas do complexo B, como niacina, piridoxina e cianocobalamina, importante fonte de selênio e alta relação potássio/sódio, conferindo a esta bebida efeito diurético. Além de possuir considerável quantidade de compostos fenólicos, encontrada no malte (70 a 80%) e no lúpulo (20 a 30%) (LUGASI, 2003; GERHAUSER, 2005).

Os compostos fenólicos originários do malte sofrem mudanças durante o processamento, e por isso não são tão bem caracterizados quanto os derivados do lúpulo (GERHAUSER, 2005). A etapa de fervura provoca uma série de mudanças na composição de polifenóis do mosto, que já é bastante complexa, dificultando a predição do destino dos polifenóis desta mistura. Tal complexidade deve-se, em parte, à facilidade de oxidação e polimerização de vários compostos fenólicos (KEUKELEIRE, 2000).

Desta forma, nas etapas de processamento da cerveja, como na fervura e na maturação, matérias-primas podem ser empregadas com a finalidade de contribuir para a qualidade fenólica, físico-química e sensorial ao produto final.

Tradicionalmente consumida na forma de infusões quentes, como chimarrão e chá mate, e infusão fria, no tererê (MACHADO et al., 2007; FILIP et al., 2000), a erva-mate apresenta grande potencial para ser empregada em outras bebidas, podendo contribuir com compostos bioativos, cor, aroma, sabor e amargor. A constituição química dessa planta, investigada por diversos autores, demonstra a riqueza de compostos bioativos, tais como, ácidos fenólicos, flavonoides, saponinas e metilxantinas (FILIP et al., 2000; FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2006; BASTOS et al., 2007; CARDOZO Jr. et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007; STREIT et al., 2007; ISOLABELLA et al., 2010).

Considerando a importância das condições de produção da cerveja, como na fervura e na maturação, sobre a qualidade final do produto e a utilização de novas matérias-primas na sua elaboração, visando a obtenção de um produto diferenciado, torna-se relevante a possibilidade de estudar e empregar a erva-mate na elaboração desta bebida. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi elaborar cervejas com adição de erva-mate, em diferentes concentrações e etapas do processamento, e acompanhar os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, capacidade antioxidante e o comportamento físico-químico durante o armazenamento das bebidas alcoólicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração das cervejas

Para a elaboração das cervejas foram utilizados malte do tipo Château Pale Ale (160 g L⁻¹ de água destilada) de origem belga, lúpulo de amargor Hallertau Magnum (1,5 g L⁻¹ de mosto) com teor de α -ácidos de 12,20%, lúpulo de aroma Saaz (0,210 g L⁻¹ de mosto) com teor de α -ácidos de 2,74%, oriundos da Alemanha e da República Tcheca, respectivamente, ambos na forma de pellet, e levedura *Saccharomyces cerevisiae* de alta fermentação (Fermentis Safale US-05) (0,5 g L⁻¹ de mosto).

Foram elaboradas três formulações de cervejas com adição de erva-mate tipo chimarrão, composta por 100% de folhas, sem adição de açúcar. No Tratamento 1 (T1) a erva-mate foi adicionada no início da etapa de fervura, junto com o lúpulo de amargor, permanecendo trinta e cinco minutos em ebulição; Tratamento 2 (T2), com adição de erva-mate cinco minutos antes do final da etapa de fervura, junto com o lúpulo de aroma, permanecendo cinco minutos em ebulição; e Tratamento 3 (T3), com adição de erva-mate na maturação das cervejas, permanecendo quatorze dias em contato com a mesma; além de uma formulação controle, sem adição de erva-mate. Cada tratamento (T1, T2 e T3) foi elaborado com quatro concentrações de erva-mate, 5, 10, 15 e 20 gramas de erva-mate por litro de mosto (g EM L⁻¹ de mosto), denominadas de C1, C2, C3 e C4, respectivamente, totalizando doze unidades amostrais e um controle. O experimento foi realizado em triplicata. As formulações foram elaboradas de acordo com a Figura 1.

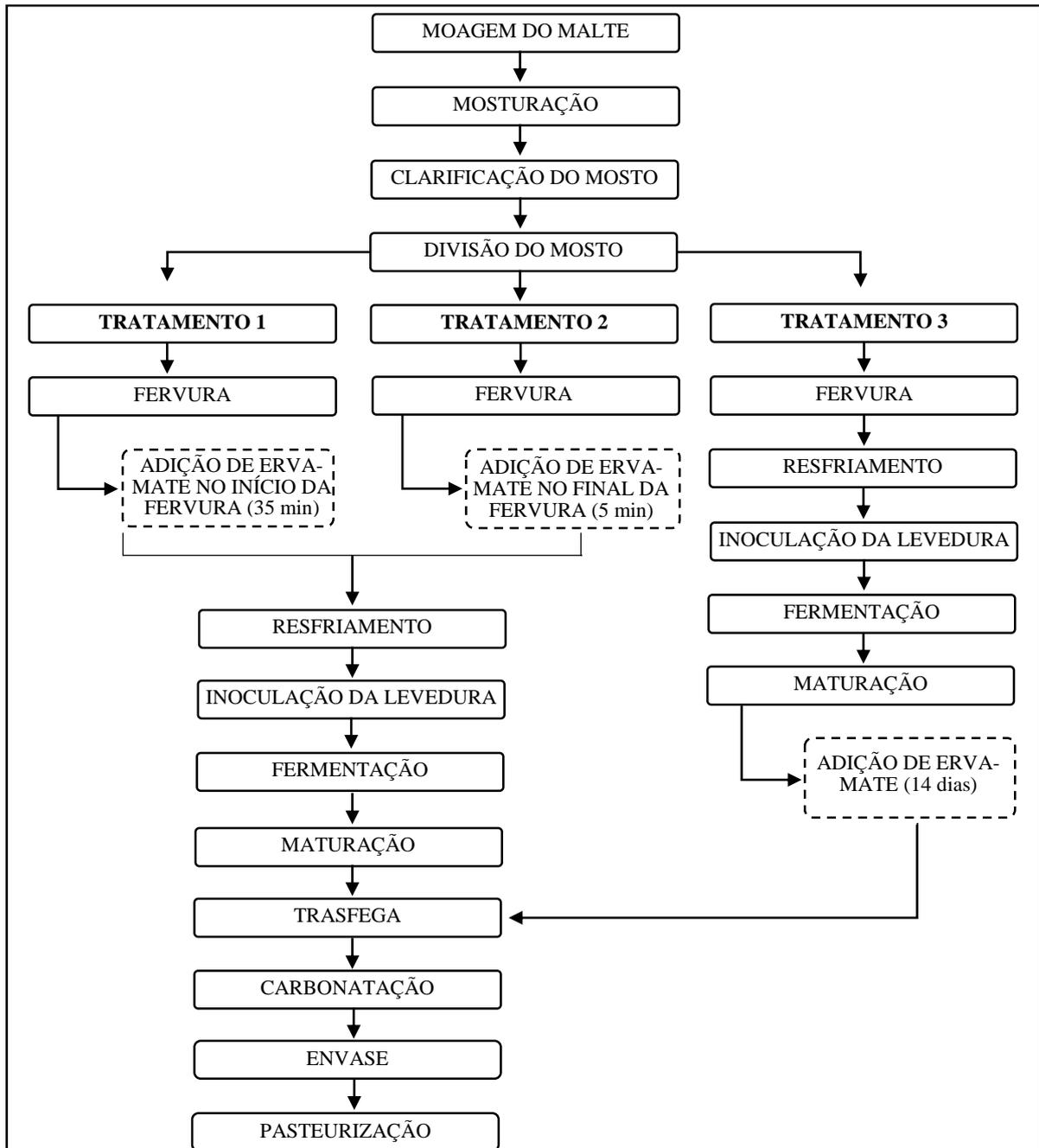


Figura 1 - Fluxograma do processamento das cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Para a elaboração das cervejas, primeiramente o malte foi triturado em moinho de dois rolos, após realizou-se o processo de mosturação, conforme a rampa de temperatura e tempo apresentados na Figura 2 (VENTURINI FILHO, 2010).

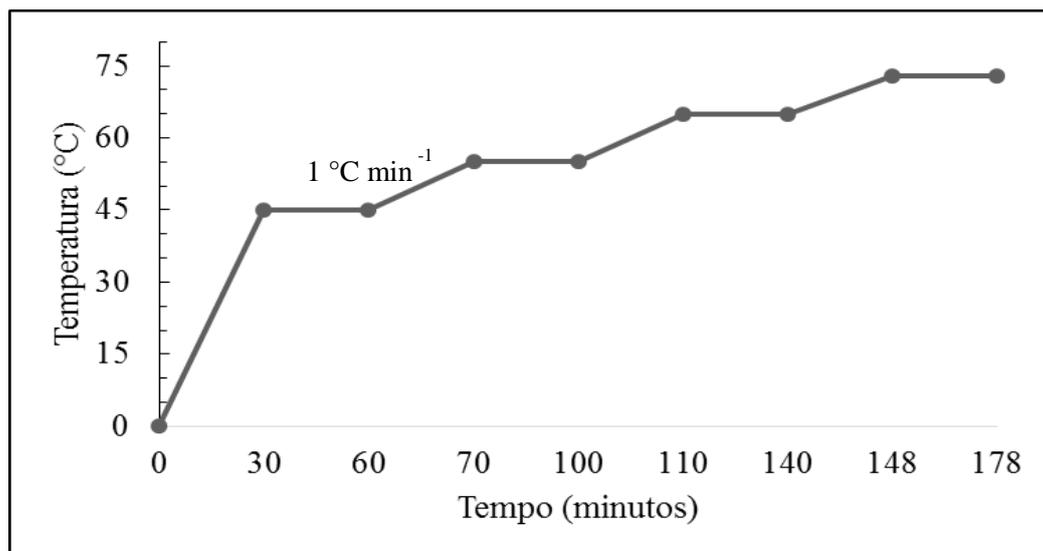


Figura 2 - Rampa de temperatura e tempo do processo de mosturação das cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Inicialmente, a água destilada foi aquecida até 45 °C, após adicionou-se o malte triturado e homogeneizou-se. As temperaturas utilizadas (45, 55, 65 e 73 °C) permaneceram constantes por trinta minutos, sendo a elevação de cada temperatura realizada a 1 °C por minuto, em sistema fechado (Figura 2).

Após a mosturação realizou-se a clarificação do mosto, nesta etapa foi retirado o resíduo de malte com auxílio de peneira, o mosto restante foi então mensurado em proveta e completado o seu volume inicial com água destilada aquecida a 73 °C, realizando-se lavagens no resíduo de malte. O mosto combinado foi então submetido a etapa de fervura por um período de 35 minutos, no início desta foi adicionado o lúpulo de amargor, neste momento também adicionou-se a erva-mate do Tratamento 1, e nos cinco minutos finais adicionou-se o lúpulo de aroma, seguido de adição de erva-mate para o Tratamento 2. Após a fervura, o mosto foi resfriado em banho de gelo até atingir 20 ± 2 °C, após o resfriamento inoculou-se a levedura, previamente ativada em água à $22 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$. A fermentação foi realizada em garrafas de polietileno tereftalato (PET) de 500 mL, ao abrigo da luz, a $20 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$. O acompanhamento dos sólidos solúveis totais (SST) foi monitorado diariamente até estabilização dos seus valores (°Brix), sendo determinado o final da fermentação quando os SST apresentaram-se constantes, por aproximadamente três dias.

Concluída a fermentação, as bebidas foram maturadas por quatorze dias à 4 °C, nesta etapa foi adicionada a erva-mate do Tratamento 3. Após a maturação realizou-se a trasfega, onde o resíduo de levedura foi separado do mosto com auxílio de peneira. Em seguida, as cervejas foram carbonatadas com 6 g de sacarose L^{-1} e engarrafadas em garrafas de vidro âmbar de 300 mL, permanecendo a 22 °C por quatorze dias. Por fim, foram submetidas ao processo

de pasteurização em banho-maria a 60 ± 1 °C por 20 minutos, temperatura e tempo referentes a 20 unidades de pasteurização, seguido de resfriamento em água a 20 °C, e armazenadas à temperatura de 24 ± 2 °C. As análises físico-químicas foram realizadas ao longo do armazenamento nos dias 1, 90 e 180, após a pasteurização das bebidas.

Determinação do rendimento e do teor alcoólico

O cálculo do rendimento das cervejas foi efetuado a partir dos volumes das bebidas obtidos e os resultados expressos em porcentagem. O teor alcoólico foi determinado com o auxílio de um densímetro, realizou-se a leitura da densidade inicial ou original (DO) do mosto, verificada antes do início da fermentação, e da densidade final (DF), após o final da fermentação. Os valores das densidades foram calculados de acordo com a equação: Teor alcoólico = $(DO - DF)/(0,75) \times (100)$. O teor alcoólico foi expresso em % v/v.

Compostos fenólicos totais

A concentração dos compostos fenólicos totais das cervejas produzidas resultou da reação de oxirredução com o reagente de Folin-Ciocalteu, o qual reage com as hidroxilas presentes nos polifenóis. As leituras em triplicata da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) em comprimento de onda de 765 nm, após duas horas ao abrigo da luz, conforme o método de Singleton e Rossi (1965). Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 0 a 80 mg L⁻¹ para construir uma curva de calibração. Os resultados obtidos foram expressos em gramas de equivalentes de ácido gálico por litro (g EAG L⁻¹).

Flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi analisado pelo método colorimétrico descrito por Zhishen; Mengcheng; Jianming (1999). As leituras das amostras foram realizadas em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus), em comprimento de onda de 510 nm. O teor de flavonoides totais foi determinado utilizando-se uma curva padrão de catequina (0-200 mg L⁻¹) e os resultados determinados a partir de uma equação de regressão, expressos em gramas de equivalentes de catequina por litro (g CAT L⁻¹).

Capacidade antioxidante *in vitro*

Método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Para a determinação da capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) foi utilizado o procedimento descrito por Benzie e Strain (1996). Este ensaio se baseia na medida direta de habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzir, em meio ácido (pH 3,6), o complexo Fe^{3+} /tripiridiltriazina (TPTZ), para formar Fe^{2+} , de intensa cor azul e absorção máxima a 593 nm.

A absorbância da mistura de reação foi medida em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus), após incubação em banho-maria a 37 °C durante 30 min. O Trolox (1 mM) foi utilizado como padrão para construir uma curva de calibração nas concentrações de 0 a 0,200 mM de Trolox sendo os resultados expressos em mM de TEAC por litro (mM TEAC L⁻¹) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico)

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS•+, utilizou-se a metodologia descrita por Re et al., (1999). Esse método baseia-se na geração do ABTS•+, que apresenta cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS com persulfato de potássio, sendo que com a adição de um antioxidante ocorre a redução do ABTS•+ a ABTS, promovendo a perda de coloração do meio reacional. A absorbância foi monitorada em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) a 750 nm, após 6 minutos de reação.

O antioxidante sintético Trolox (1mM) foi utilizado nas concentrações de 0 a 0,200 mM em etanol, para a construção de uma curva de calibração. Todas as leituras foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mM de TEAC por litro (mM TEAC L⁻¹) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila)

A metodologia utilizada foi descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) com algumas adaptações. O método tem por base a redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•+) por antioxidantes da amostra produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm, após serem mantidas por 24 horas no escuro à temperatura ambiente.

As medidas das absorvâncias foram efetuadas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) a 517 nm contra um branco de controle. A concentração do DPPH foi calculada a partir de uma equação de regressão utilizando-se o Trolox como padrão, nas concentrações de 0 a 0,250 mM. Os resultados foram expressos em mM de TEAC por litro (mM TEAC L⁻¹) (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Determinação de cor

A determinação da cor foi realizada de acordo com a *European Brewery Convention* (EBC, 1987). Amostras de cervejas descarbonatadas em banho ultrassônico com frequência de 40 KHz (*Ultra Sonic Clean*, modelo USC 1600) foram lidas em triplicatas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) no comprimento de onda de 430 nm, e a cor calculada de acordo com a equação: $EBC = Absorbância_{430} \times 25$.

Determinação de unidades de amargor

A análise global de amargor, expressa como *Bitterness Units* (BU), foi determinada após extração com isooctano (2,2,4-trimetilpentano) em amostras de cervejas descarbonatadas, acidificadas com HCl 6N, seguido de medição espectrofotométrica (FEMTO® 600 plus) em comprimento de onda de 275 nm e calculado de acordo com a equação: $BU = Absorbância_{275} \times 50$ (EBC, 1987).

Determinação dos sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis totais (SST) foram determinados através de leitura direta em refratômetro portátil (Biobrix-Refractometro, 103), em sala climatizada a 20 ± 2 °C e os valores expressados em °Brix (AOAC, 2005).

Determinação do teor de espuma

O procedimento para determinar o teor de espuma foi realizado com 300 mL de amostra de cerveja a 20 ± 2 °C, e consistiu em verter a amostra com auxílio de um funil para uma proveta de 1 L, em fluxo constante sem encostar na parede do recipiente. O volume de espuma e líquido

presentes inicialmente na proveta foram verificados, e após 15 minutos mensurou-se o volume de espuma e de líquido finais.

Para obtenção do valor de drenagem, expresso em porcentagem, os valores foram aplicados na equação: $\text{Drenagem (\%)} = (\Delta V_f \times 100) / \Delta V_o$, onde, ΔV_f : volume de espuma final, ΔV_o : volume de espuma inicial (DE CLERK, 1958).

Determinação do pH e da acidez total titulável (ATT)

O pH foi verificado por método potenciométrico em medidor de pH (DM 22 Digimed[®]), previamente calibrado com soluções tampões (Merck[®]) pH 4,0 e 7,0, a temperatura constante de 20 ± 2 °C (AOAC, 2005). A acidez total titulável (ATT) foi determinada após titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N e indicador fenolftaleína até coloração rósea. Utilizou-se o volume de NaOH gasto para obter o valor de acidez total titulável em % v/v (AOAC, 2005).

Determinação do teor de extrato real e primitivo

A determinação do extrato real (ER) é baseada na pesagem do resíduo seco de um certo volume de amostra submetido a evaporação (IAL, 2008). O procedimento consistiu em transferir 10 mL de amostra descarbonatada, para uma cápsula previamente aquecida em estufa à 100 ± 5 °C por 1 hora, resfriada em dessecador e pesada. Após, realizou-se o aquecimento da cápsula com amostra em banho-maria até a secagem, posteriormente foi levada à estufa a 100 ± 5 °C por 1 hora, resfriada a temperatura ambiente em dessecador e pesada novamente. Os valores das pesagens foram aplicados na equação: $\text{ER} = (100 \times P) / V$, onde, P: massa do resíduo, em g, V: volume da amostra, em mL. O ER foi expresso em % m/v.

O extrato primitivo (EP) foi obtido por meio de cálculo envolvendo os valores de teor alcoólico e extrato real segundo a fórmula de Balling (IAL, 2008). O EP foi calculado de acordo com a equação: $\text{EP} = [(P \times 2,066) + \text{Er}] \times 100 / [100 + (P \times 1,06)]$, onde, P: % de álcool em peso, Er: % de extrato real, e expresso em % m/m.

Análise estatística

Os dados obtidos são apresentados como média \pm desvio-padrão e foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com auxílio do *software* Statistica, versão 7.0 (StatSoft Inc., 1984-2004, Tulsa, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 3 pode ser observado o declínio dos valores de sólidos solúveis totais (SST), acompanhados durante a fermentação das cervejas controle, T1, T2 e T3, adicionadas de diferentes concentrações de erva-mate (C1, C2, C3 e C4). A fermentação ocorreu por um período de oito dias, até a estabilização dos SST. Observa-se que o comportamento da fermentação das formulações de cervejas foram semelhantes, com um declínio até o 4º dia e após, com tendência a estabilização. O Tratamento T1C3, com 15 g EM L⁻¹ (Fig. 3B) apresentou maior valor inicial de SST, possivelmente fenólicos glicosilados podem ter sido desglicosilados aumentando parcialmente o teor de sólidos solúveis totais. Tal hipótese sustenta-se sobre o rendimento volumétrico dos mostos em todos os tratamentos, incluindo o controle (Tabela 1).

Quanto ao teor alcoólico (Tabela 1), o valor obtido para cerveja controle foi de 4,62% v/v, no tratamento T1 ocorreu variação de 4,13 a 6,07% v/v, no T2 de 4,62 a 4,93% v/v e no T3 de 3,82 a 4,00% v/v. Todas as formulações enquadraram-se dentro do padrão estabelecido pela legislação brasileira, que considera cerveja com álcool, quando seu conteúdo for superior a 0,5% em volume (BRASIL, 2009). O maior teor alcoólico foi observado para o tratamento T1C3, devido ao maior teor de SST inicial. Dependendo da concentração de açúcares fermentescíveis no mosto, tem-se maior ou menor concentração de álcool ao final da fermentação. Porém, a adição de erva-mate durante o final da fermentação (T3), para liberação dos compostos fenólicos durante a maturação, apresentou uma tendência de redução do teor alcoólico (Tab. 1 e Fig. 3D) em comparação aos demais tratamentos. Possivelmente esta redução do teor alcoólico seja devido a interação entre o etanol e os compostos fenólicos da erva-mate.

Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais nas cervejas, empregando-se 5, 10, 15 e 20 gramas de erva-mate por litro (g EM L⁻¹) da bebida, em diferentes etapas do seu processamento, são apresentados na Tabela 2 (Fig. 4A e 4B). Observou-se, em todos os tratamentos e dias analisados, que quanto maior a concentração de erva-mate adicionada nas cervejas, maiores os teores de compostos fenólicos totais e flavonóides totais. Nos dias analisados, é possível verificar que todos os tratamentos das cervejas adicionadas de 20 g de EM L⁻¹ apresentaram os maiores valores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais. No dia 1, os teores de compostos fenólicos totais das cervejas adicionadas de 20 g EM L⁻¹ aumentaram em relação a cerveja controle 608,5%, 585,1% e 557,4% para os tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. Neste mesmo dia, os teores de flavonoides totais das cervejas adicionadas

de 20 g EM L⁻¹ aumentaram em relação a cerveja controle 5825%, 4875% e 5250% para os tratamentos 1, 2 e 3, respectivamente. Observou-se ainda, que o tempo de fervura da erva-mate também alterou os compostos fenólicos, pois ao longo do armazenamento (dias 90 e 180), o TIC4, com adição de erva-mate no início da etapa de fervura do mosto, além de apresentar os maiores teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, diferiu significativamente dos demais tratamentos nesta concentração ($p \leq 0,05$). Santos et al., (2014) ao analisarem extratos aquosos de diferentes tipos de ervas-mate comerciais observaram que, trinta minutos de extração à 85 °C favoreceram a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais, quando comparado com o tempo de dez minutos, na mesma temperatura.

As cervejas do tratamento T2 (Tab.2/Fig. 4A e 4B) não apresentaram diferença significativa ao nível significância de 5% nos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, ao longo do armazenamento. Deste modo, a adição de 5, 10, 15 e 20 g de folhas de EM L⁻¹ de cerveja, nos cinco minutos finais de fervura do mosto cervejeiro (T2), contribuem para a manutenção destes compostos no decorrer da vida de prateleira das bebidas.

A cerveja controle apresentou nos dias 1, 90 e 180 os menores teores de compostos fenólicos totais (0,47, 0,46 e 0,51 g EAG L⁻¹, respectivamente) diferindo estatisticamente de todos os tratamentos, exceto, no dia 1, para o T3C1 (0,91 g EAG L⁻¹), com adição de 5 g de EM L⁻¹ de cerveja na etapa de maturação das bebidas. Durante o armazenamento da cerveja controle os teores de compostos fenólicos, oriundos do malte e do lúpulo, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Em relação aos teores de flavonoides totais, a cerveja controle também apresentou nos dias de armazenamento, 1, 90 e 180, os menores teores (0,04, 0,05 e 0,04 mg CAT L⁻¹, respectivamente) diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Os resultados da formulação de cerveja controle deste estudo estão de acordo com os encontrados por Freitas et al., (2006), ao analisarem quatorze amostras de cervejas comerciais os autores verificaram que os teores de polifenóis totais foram de 0,40 g EAG L⁻¹ para cerveja de trigo clara, 0,79 a 0,81 g EAG L⁻¹ para cerveja de trigo escura, 0,25 a 0,54 g EAG L⁻¹ com cevada clara, 0,43 a 0,73 g EAG L⁻¹ com cevada escura e 0,44 g EAG L⁻¹ para a elaborada com cevada clara orgânica.

Como observado, em todos os tratamentos, quanto maior a concentração de erva-mate adicionada maiores os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, assim como aumento da capacidade antioxidante, em todos os métodos analisados, podendo estas análises se relacionarem (Tab. 2 e 3/Fig. 4A, B, C, D e E). Apesar do mecanismo de reações entre os métodos ABTS, DPPH e FRAP serem baseados na interação com os prótons liberados dos

compostos fenólicos, aparentemente, há uma grande diferença entre os métodos, possivelmente pela força de reação dos agentes oxidantes.

Assim como observado nas análises de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, a cerveja controle apresentou os menores valores de capacidade antioxidante, em todos os métodos analisados, apresentando diferença significativa dos demais tratamentos, exceto, quando analisada pelo método ABTS no dia 1, para os tratamentos T1, T2 e T3, com adição de 5 g EM L⁻¹ de cerveja (Tab. 3/Fig. 4C). Ao passo que concentrações mais elevadas de erva-mate não apresentam este comportamento. Esses resultados indicam que 5 g EM L⁻¹ de cerveja, adicionadas no início (T1) e no final (T2) da etapa de fervura e na maturação (T3) das bebidas, não contribuíram significativamente para a capacidade antioxidante no dia 1 de armazenamento das mesmas, quando analisadas pelo método ABTS. Porém, observou-se que o armazenamento das bebidas por 180 dias resultou em aumento significativo ($p \leq 0,05$) da capacidade antioxidante na cerveja controle e nos tratamentos T1, T2 e T3, em todas as concentrações de erva-mate adicionadas, quando analisadas pelo método do radical ABTS•+.

Os resultados obtidos para a capacidade antioxidante pelo método DPPH, no dia inicial de análise (Tab. 3/Fig. 4D), variaram entre 0,09 e 1,92 mM TROLOX L⁻¹, para a cerveja controle e o tratamento T2 com adição de 20 g EM L⁻¹ nos cinco minutos finais da etapa de fervura do mosto, respectivamente. Durante o armazenamento das bebidas, a cerveja controle apresentou aumento da capacidade antioxidante no dia 90 (0,11 mM TROLOX L⁻¹), seguido de diminuição significativa da mesma no dia 180 (0,06 mM TROLOX L⁻¹). Os tratamentos apresentaram tendência ao aumento da capacidade antioxidante no decorrer do armazenamento, o que está diretamente relacionado ao aumento dos compostos fenólicos totais. Freitas et al., (2006) ao avaliarem amostras de cervejas comerciais, observaram uma correlação positiva entre a média do conteúdo de polifenóis totais com a média dos valores da capacidade antioxidante analisada pelos métodos ABTS e DPPH, indicando uma forte influência dos compostos fenólicos sobre a atividade antioxidantes das cervejas.

Na análise de capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) (Tab. 3/Fig. 4E), os maiores valores foram observados na adição de 20 g EM L⁻¹, para todos os tratamentos. Porém, quando a erva-mate é adicionada durante a etapa de fervura por trinta e cinco minutos (T1), favorece o poder antioxidante durante 90 e 180 dias de armazenamento. Sendo coerente com o método de DPPH onde, os resultados demonstram que um maior tempo de fervura da erva-mate, juntamente com o lúpulo de amargor, acarreta em maiores valores de capacidade antioxidante no decorrer do armazenamento de cervejas.

Os resultados da análise de cor são apresentados na Tabela 4 (Fig. 4F). A formulação de cerveja controle apresentou aumento significativo dos valores de EBC no decorrer do armazenamento ($p \leq 0,05$). No dia 1, os tratamentos T1, com adição de erva-mate no início da etapa de fervura do mosto cervejeiro e T2 com adição de erva-mate no final da etapa de fervura, apresentaram aumento da cor nas concentrações C1 e C2 ($p > 0,05$), porém, com o aumento das concentrações de erva-mate (C3 e C4), observou-se estabilização nos valores de cor ($p > 0,05$). No entanto, o tratamento com adição de erva-mate na maturação das cervejas (T3), apresentou aumento dos valores de cor proporcionais a concentração de erva-mate adicionada nas cervejas. Em todos os tratamentos a cor manteve-se estável nos dias 90 e 180 de armazenamento, não apresentando diferença significativa ao nível de 5%. Esses resultados de cor estão correlacionados aos teores de flavonoides totais, pois o método de EBC efetua leituras a 430 nm e os flavonoides totais absorvem comprimentos de onda nesta faixa, sendo quantificados a 520 nm na metodologia aplicada para sua mensuração. Filip et al (2001) verificaram para a espécie *Ilex paraguariensis* maiores teores de fenólicos derivados de cafeoil e flavonoides, quando comparada com outras espécies do gênero *Ilex*.

Quando a erva-mate é adicionada durante a maturação os compostos detectados na cor podem ser os carotenoides, em sua maioria. A extratibilidade dos compostos fenólicos totais é menor durante a maturação, assim como os flavonoides totais, no entanto na análise de cor observa-se um alto índice com a adição de 20 g EM L⁻¹ durante a maturação. Este fato pode ser observado nas cervejas adicionadas de erva-mate no tratamento T3 que apresentaram comportamento diferenciado em relação ao parâmetro de cor, possivelmente pela manutenção da clorofila oriunda da erva-mate durante a maturação. Esta possui efeitos diferentes quando submetidas a temperaturas elevadas (SCHWARTZ; LORENZO, 1990), o que ocorreu nos tratamentos T2 e T1. No tratamento T3, além da erva-mate não entrar em contato com o calor, ela foi adicionada quando o meio já estava alcoólico, após a fermentação das bebidas, facilitando desta forma a extração dos pigmentos das folhas de erva-mate, conforme aumentou-se a concentração da mesma (SCHWARTZ; LORENZO, 1990). De acordo com a legislação brasileira, as cervejas podem ser classificadas quanto a cor em clara ou escura, quando obterem menos de vinte, ou vinte ou mais unidades EBC, respectivamente (BRASIL, 2009). A adição de erva-mate contribuiu para elevação dos teores de cor, porém, com exceção dos tratamentos T3C4 no dia 1 e T1C3, nos dias 90 e 180, todas as cervejas, incluindo a controle, foram classificadas como cervejas clara.

Em relação aos resultados da análise de amargor (Tab. 4/Fig. 5A), a cerveja controle apresentou teores de 11,38 a 14,10 BU no decorrer do armazenamento, sem diferir

estatisticamente entre os dias analisados ($p > 0,05$). Porém, há uma tendência do aumento do teor de amargor com o armazenamento em todos os tratamentos, incluindo o controle, ainda assim sem diferir estatisticamente ($p > 0,05$).

A adição de diferentes concentrações de erva-mate durante a etapa de maturação das cervejas (T3) acarretou em bebidas menos amargas no dia 1 de armazenamento, com teores variando de 4,27 a 5,65 BU, mantendo-se com os menores valores no decorrer do armazenamento. Esse decréscimo não era esperado no dia 1 de armazenamento, pois a quantidade de lúpulo adicionada foi a mesma em todos os tratamentos. É possível que os componentes da erva-mate tenham interagido com as resinas amargas do lúpulo durante a maturação das cervejas, período que a erva-mate esteve por 14 dias em contato com a bebida. Comportamento semelhante na redução do índice de amargor foi observado por Brunelli, Mansano e Venturini Filho, (2014) em cervejas elaboradas com mel. Assim como a erva-mate, o mel também possui concentrações consideráveis de compostos fenólicos totais, levando-se em conta esta similaridade os polifenóis podem ser responsáveis pela complexação com os iso- α -ácidos provenientes do lúpulo.

Silva e Faria (2008) ao avaliarem o amargor de amostras de cervejas de origem norte-americana e brasileira, incluindo os tipos *lager*, *microcervejaria*, *pale ale* e *lager pilsener*, observaram que os valores de BU situaram-se entre 12 e 27, sendo a cerveja menos amarga brasileira do tipo pilsener. Collin, Derdelinckx e Dofour, (1994), verificaram que valores de amargor preferidos sensorialmente em cervejas situaram-se entre 17,5 a 25 BU. Estes valores são próximos aos encontrados neste trabalho, para a cerveja controle e os tratamentos T1 e T2, principalmente nos dias 90 e 180.

Em relação aos sólidos solúveis totais (Tab. 4/Fig. 5B), observou-se que a cerveja controle e as com adição de diferentes concentrações de erva-mate durante as etapas do processamento das mesmas (T1, T2 e T3), apresentaram o mesmo comportamento. No dia 90 de armazenamento apresentou leve tendência ao decaimento dos sólidos solúveis totais, seguido de aumento no dia 180 sem diferir estatisticamente.

Os teores de espuma das cervejas, expressos em % de drenagem, são apresentados na Tabela 5 (Fig. 5C). No dia 1 de armazenamento não foi observado diferença significativa no % de drenagem entre os tratamentos. Com o decorrer do armazenamento, o % de drenagem aumenta para todos os tratamentos, incluindo o controle. Uma das primeiras características utilizadas na avaliação de uma cerveja é a qualidade da espuma, devido sua capacidade de influenciar na decisão de compra dos consumidores, tornando-se um fator muito importante para a indústria cervejeira (SILVA; FERREIRA; TEIXEIRA, 2006, REBELLO, 2009). Assim,

a adição de erva-mate nas cervejas, em qualquer etapa da elaboração, não influencia na qualidade da espuma.

Analisando os resultados de pH (Tab. 5/Fig. 5D), observa-se que os valores aumentaram no decorrer do armazenamento ($p \leq 0,05$) os valores variaram de 4,02 a 4,71 no dia 1, de 4,11 a 4,65 no dia 90 e de 4,30 a 5,09 no dia 180. A formulação de cerveja controle apresentou os menores valores de pH, aumentando no decorrer do tempo analisado, porém sem diferir estatisticamente ($p > 0,05$). Esses valores estão próximos aos encontrados na literatura, Bathke, Dresch e Souza (2013) verificaram valores de pH variando de 4,8 a 5,1 para amostras de cerveja sem glúten com malte de sorgo, milho e arroz. Gloria e Izquierdo-Pulido (1999) encontraram valores médios variando entre 4,18 e 4,34 para os diferentes tipos de cervejas analisados.

Em relação aos teores de ATT (Tab. 5/Fig. 5I) verificou-se que nos dias analisados (1, 90 e 180), as cervejas adicionadas de concentrações de erva-mate em diferentes etapas do processamento não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). O mesmo foi observado para o extrato real, exceto T3C1, e para o extrato primitivo (Tab. 6/Fig. 5F e 5G).

Pela legislação brasileira as cervejas são classificadas, quanto ao extrato primitivo, em cerveja leve (≥ 5 e $< 10,5\%$), comum ($\geq 10,5$ e $< 12\%$), cerveja extra (≥ 12 e $\leq 14\%$) e em cerveja forte ($> 14\%$), valores expressos % em peso (BRASIL, 2009). As formulações deste trabalho, enquadraram-se na legislação, recebendo a classificação de cerveja leve (controle), cerveja leve, comum ou extra (T1), cerveja comum (T2) e cerveja leve (T3). Devido ao tratamento T1 ter apresentado maiores variações nos SST no início da fermentação, interferindo no teor alcoólico das cervejas, os valores de extratos primitivos também foram afetados.

A adição de 15 gramas de erva-mate por litro de mosto, durante o início da etapa de fervura do mosto, parece interferir com maior intensidade os parâmetros cervejeiros, pois ao acrescentar altos teores de compostos fenólicos totais, 474,5% acima do controle (Fig. 4A) influenciou o aumento dos sólidos solúveis totais por desglicosilação (Fig. 5B) o que refletiu no aumento do teor de álcool (Tab. 1), no extrato real (Fig. 5F), assim como no extrato primitivo elevado (Fig. 5G). Deste modo, sugere-se um estudo mais aprofundado sobre a glicosilação dos compostos fenólicos, que poderiam estar liberando açúcares no meio. No entanto, concentrações mais elevadas, como 20 gramas de erva-mate por litro, que incorpora 608,5% de compostos fenólicos, poderia, além de liberar açúcares estar interagindo com o meio, através da precipitação de proteínas em maior volume, carreando além das proteínas os açúcares fermentescíveis.

CONCLUSÃO

Os resultados dos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais demonstram que as cervejas elaboradas com adição de diferentes concentrações de erva-mate foram capazes de apresentar teores significativos desses compostos com o aumento da concentração desta matéria-prima, além de elevada capacidade antioxidante, podendo ser armazenadas durante 180 dias, sem decréscimo dos compostos.

Entre os tratamentos analisados, a adição de erva-mate no início da fervura do mosto cervejeiro incorpora altos teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais. As concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹, adicionadas nas cervejas na etapa de fervura do mosto cervejeiro, contribuem para um aumento na coloração das bebidas. Quando adicionada na maturação, a erva-mate é capaz de aumentar a cor proporcional a sua concentração.

A unidade de amargor das bebidas alcoólicas apresentam valores inferiores quando a erva-mate é inserida na maturação das cervejas. A adição de concentrações de 15 e 20 g EM L⁻¹ nas cervejas influencia o comportamento dos teores de SST, ATT, etanol, extrato real e extrato primitivo.

Os resultados obtidos demonstram que cervejas adicionadas de 5 e 10 g EM L⁻¹, nas etapas de fervura e maturação, apresentam potencial fenólico, antioxidante e características físico-químicas relevantes para a indústria de bebidas alcoólicas, constituindo uma nova proposta para a indústria cervejeira.

REFERÊNCIAS

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18 th ed., supplement 1998. Washington: AOAC, 1018p. 2005.

BAMFORTH, C. W. Nutritional aspects of beer a review. **Nutrition Research**, v. 22, n. 1-2, p. 227-237, 2002.

BASTOS, D. H. M. et al. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerbá maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 399-404, 2006.

BASTOS, D. H. et al. Phenolics antioxidants identified by EST-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 423-432, 2007.

BATHKE, L. D.; DRESCH, M. R.; SOUZA, C. F. V. Elaboração e avaliação de alguns aspectos da qualidade de cerveja isenta de glúten. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 11-19, 2013.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidante activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.22, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Decreto n. 6.871 de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2009.

BRUNELLI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19-27, 2014.

CARDOZO Jr, E. L. et al. Methlxanthines and fenolic compounds contentes in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progênes grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 7, p. 553-558, 2007.

COLLIN, S.; DERDELINCKX, G.; DUFOUR, J. P. Relationships between the chemical composition and sensory evaluation of *lager* beers. **Food Quality and Preference**, v. 5, n. 1-2, p. 145-149, 1994.

DE CLERK, J. Analysis of beer. In: BRODERICK, H. M. (Ed.). **A textbook of brewing**. London: Chapman & Hall, 1958. Cap. 11, p. 426-514.

EBC, European Brewery Convention. **Analytica EBC**. 4th ed. Zürich: Bräueri-und Getränke-rundschau, 498p, 1987.

FILIP, R. et al. Phenolic compounds in seven Stouh American *Ilex paraguariensis* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p.774-778, 2001.

FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p.1437-1446, 2000.

FREITAS, G. L. et al. Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH*. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.303-307, jul./set. 2006.

GERHAUSER, C. Beer constituents as potential chemopreventive agents. **European Journal of Cancer**, v. 41, n. 13, p. 1941-1954, 2005.

GLORIA, M.B.A.; IZQUIERDO-PULIDO, M. Levels and signifi cance of biogenic amines in Brazilian beers. **Journal of Food Composition Analysis**, v. 12, n. 2, p. 129-136, 1999.

HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, p. 138-151, 2007

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. digital. São Paulo, 2008. 1020 p.

ISOLABELLA, S. et al. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 695-699, 2010.

KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, v.23, n.1, p. 108-112, 2000.

LINKO, M. et al. Recent advances in the malting and brewing industry. **Journal of Biotechnology**, v. 65, n. 2-3, p. 85-98, 1998.

LUGASI, A. Polyphenol content and antioxidante properties of beer. **Acta Alimentaria**, v. 32, n.2, p. 181-192, 2003.

MACHADO, C. C. B. et al. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 513-518, 2007.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

REBELLO, F. F. P. Produção de cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, p. 145-155, dez. 2009.

SANTOS, C. O. et al. Caracterização, teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em diferentes tipos de erva-mate para chimarrão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 1, p. 77-86, 2014.

SILVA, F.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; TEIXEIRA, N. Polipeptídeos e proteínas com influência na qualidade da espuma da cerveja e métodos analíticos utilizados no seu estudo. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1326-1331, 2006.

SILVA, P. H. A.; FARIA, F. C. Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 902-906, out.-dez. 2008.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

STREIT, N. M. et al. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 560-564, 2007.

SCHWARTZ, S.J.; LORENZO, T.V. Chlorophylls in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.29, n.1, p.1-17, 1990.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. vol.1. São Paulo: Blucher, p. 15- 50, 2010.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999.

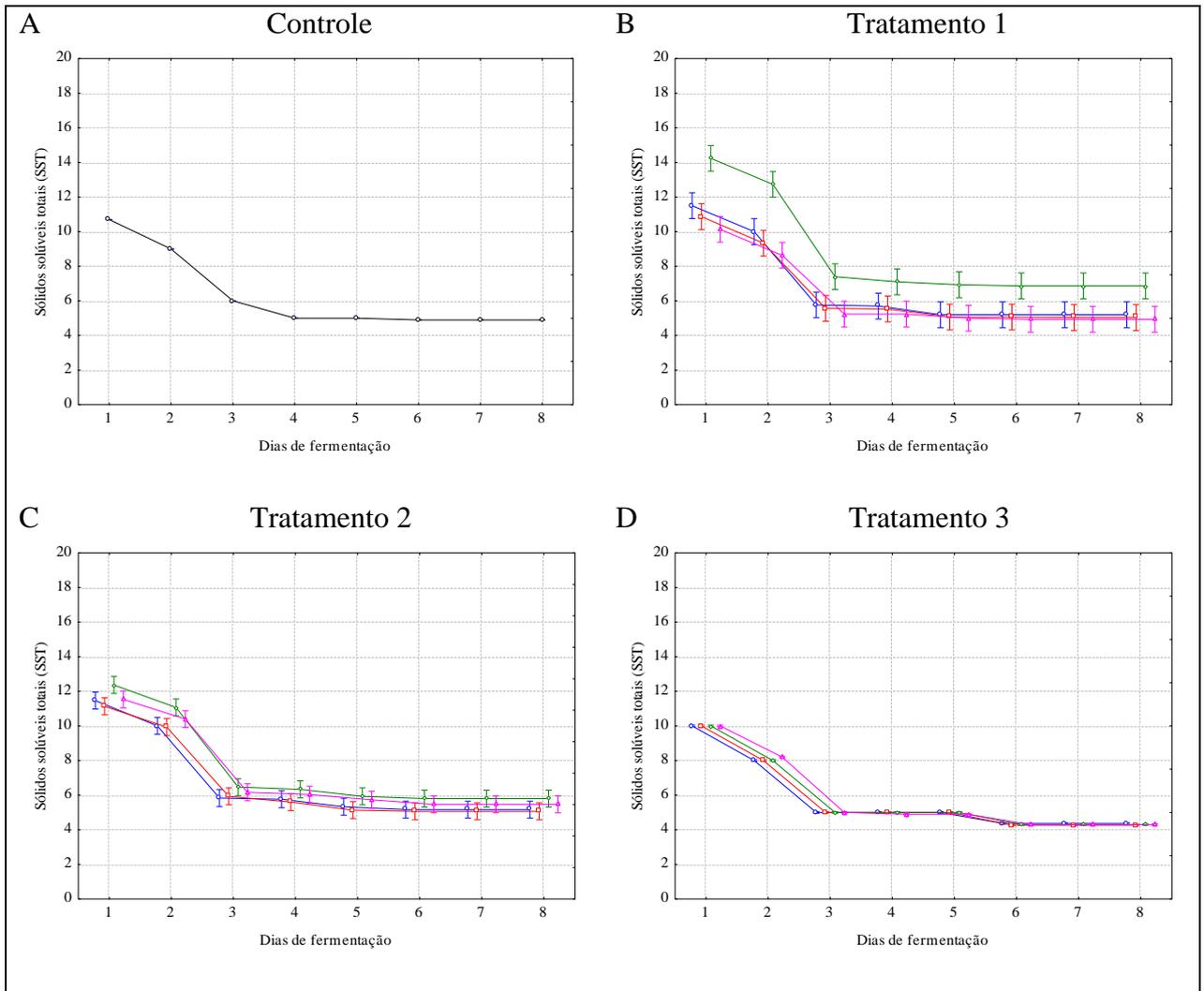


Figura 3 - Curvas de fermentação das diferentes formulações de cervejas: acompanhamento dos sólidos solúveis totais (°Brix) ao longo do tempo. A - Controle: sem adição de erva-mate; B - Tratamento 1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; C - Tratamento 2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; D - Tratamento 3: erva-mate adicionada na maturação. C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹.

Tabela 1 - Rendimento e teor alcoólico das cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Rendimento (%)	Teor alcoólico (%v/v)
Controle	-	75,00±1,67a	4,62±0,08bcde
	C1	72,17±0,29b	4,58±0,28bcde
T1	C2	71,83±0,29b	4,40±0,74bcde
	C3	71,67±0,58b	6,07±0,09a
	C4	71,50±0,87b	4,13±0,19bcde
	C1	72,33±0,58b	4,71±0,20bcd
T2	C2	72,13±0,58b	4,62±0,28bcde
	C3	71,97±0,06b	4,93±0,38bc
	C4	71,95±0,09b	4,93±0,27bc
	C1	71,80±0,26b	4,00±0,13cde
T3	C2	71,47±0,84b	3,87±0,00de
	C3	71,17±1,44b	3,91±0,08de
	C4	71,00±1,73b	3,82±0,08e

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹.

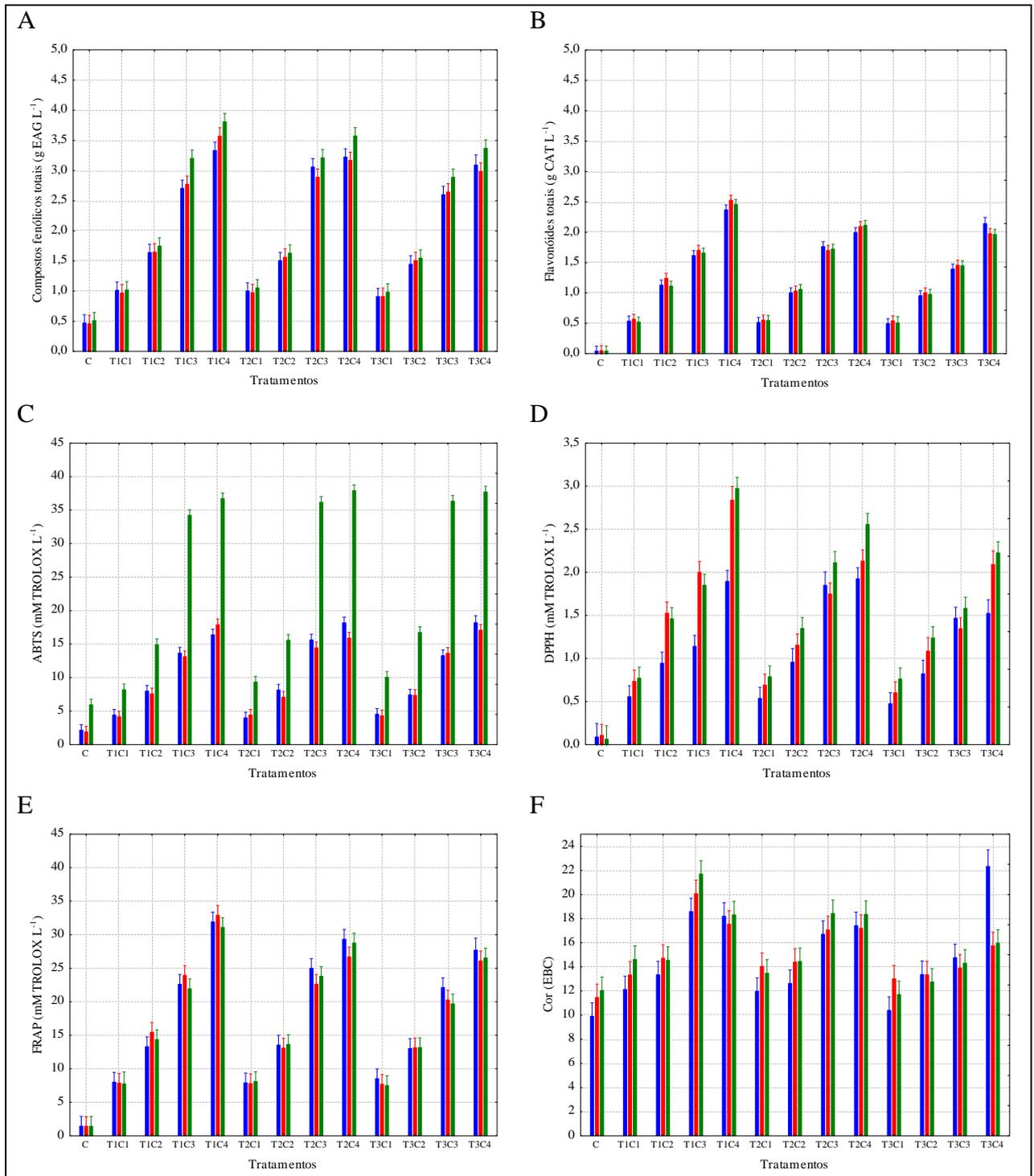
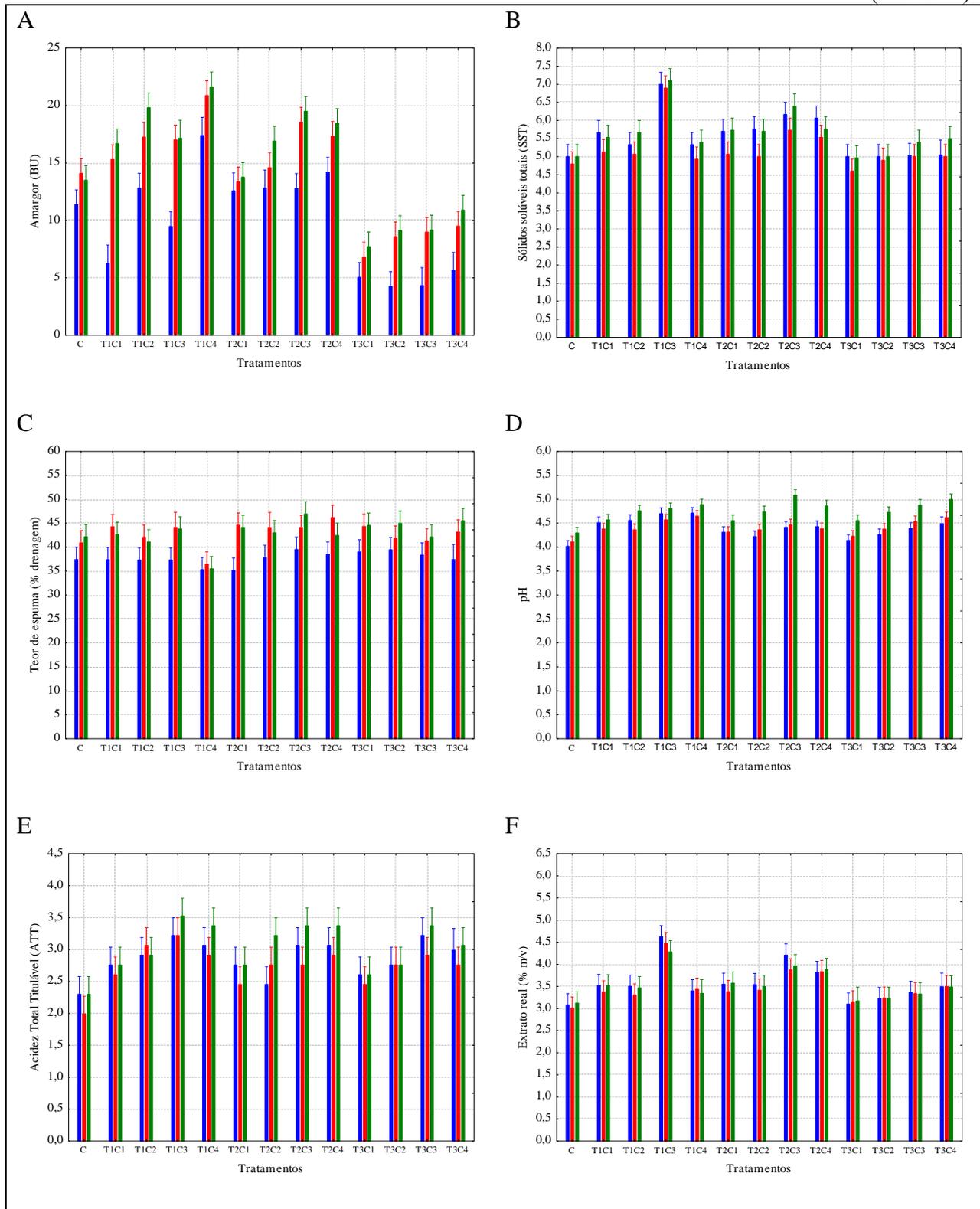


Figura 4 - Teores de compostos fenólicos totais, flavonóides totais, capacidade antioxidante e cor em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). Dias de armazenamento: 1 (blue) 90 (red) 180 (green). C: controle; T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹.

(continua)



(conclusão)

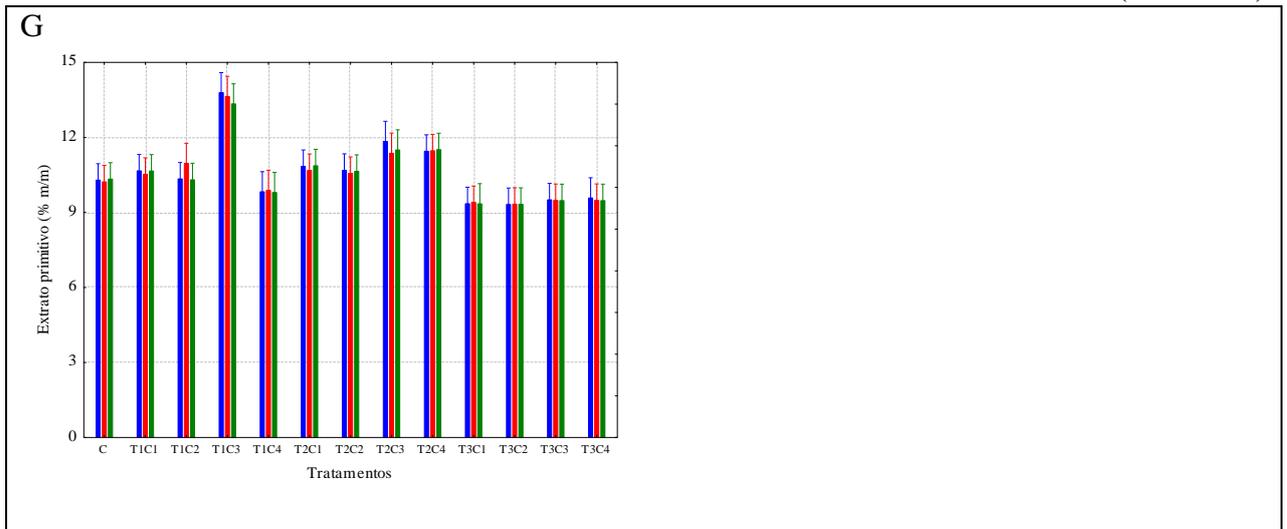


Figura 5 - Amargor, SST, teor de espuma, pH, ATT, extrato real e extrato primitivo em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). Dias de armazenamento: 1 90 180. C: controle; T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹.

Tabela 2 - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Dias de armazenamento			
		1	90	180	
Compostos fenólicos totais (g EAG L ⁻¹)					
Controle	-	0,47±0,01fA	0,46±0,02gA	0,51±0,03gA	
	C1	1,01±0,01deA	0,97±0,02fB	1,02±0,02fA	
	T1	C2	1,64±0,04cA	1,65±0,09eA	1,75±0,03eA
		C3	2,70±0,09bA	2,77±0,06cdB	3,20±0,13cA
C4		3,33±0,28aB	3,57±0,11aAB	3,81±0,11aA	
C1		1,00±0,09deA	0,97±0,01fA	1,05±0,03fA	
T2	C2	1,50±0,05cA	1,56±0,06eA	1,63±0,04eA	
	C3	3,06±0,36abA	2,89±0,19bcdA	3,21±0,11cA	
	C4	3,22±0,28aA	3,17±0,25bA	3,57±0,09bA	
	C1	0,91±0,07efA	0,91±0,03fA	0,98±0,01fA	
T3	C2	1,45±0,03cdA	1,51±0,05eAB	1,55±0,01eA	
	C3	2,60±0,07bB	2,65±0,14dB	2,89±0,05dA	
	C4	3,09±0,14abAB	2,99±0,07bcB	3,37±0,14bcA	
	Flavonoides totais (g CAT L ⁻¹)				
Controle	-	0,04±0,00hB	0,05±0,00hA	0,04±0,00gB	
	C1	0,54±0,03gA	0,57±0,03gA	0,52±0,02fA	
T1	C2	1,13±0,06fA	1,24±0,09eA	1,11±0,06eA	
	C3	1,62±0,11deA	1,70±0,08cA	1,66±0,09dA	
	C4	2,37±0,12aA	2,53±0,09aA	2,46±0,09aA	
	C1	0,51±0,03gA	0,55±0,01gA	0,55±0,02fA	
T2	C2	1,00±0,03fA	1,03±0,01fA	1,06±0,03eA	
	C3	1,76±0,22cdA	1,70±0,11cA	1,72±0,11cA	
	C4	1,99±0,12bcA	2,09±0,14bA	2,11±0,05bA	
	C1	0,50±0,01gB	0,54±0,00gA	0,51±0,02fB	
T3	C2	0,96±0,01fA	1,00±0,01fA	0,98±0,03eA	
	C3	1,40±0,03eB	1,46±0,01dA	1,45±0,01dA	
	C4	2,14±0,08abA	1,98±0,03bB	1,96±0,01bB	

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹. Letras minúsculas diferentes na coluna correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos e o dia de armazenamento, letras maiúsculas diferentes na linha correspondem a diferença significativa entre o tratamento e os dias de armazenamento, pelo teste de Tukey (p≤0,05) n = 9.

Tabela 3 - Capacidade antioxidante por diferentes métodos em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Dias de armazenamento		
		1	90	180
ABTS (mM TROLOX L ⁻¹)				
Controle	-	2,13±0,24eB	1,88±0,01gB	5,94±0,51iA
	C1	4,41±0,12deB	4,15±0,09fC	8,20±0,05hA
T1	C2	7,98±0,21cB	7,58±0,40eB	14,91±0,67fA
	C3	13,67±1,21bB	13,12±0,50dB	34,22±0,93dA
	C4	16,39±2,19abB	17,89±0,34aB	36,71±0,36abcA
	C1	3,99±0,62eB	4,42±0,12fB	9,35±0,07ghA
T2	C2	8,16±0,55cB	7,08±0,08eC	15,59±0,43efA
	C3	15,63±0,51abB	14,44±0,27cC	36,18±0,30cA
	C4	18,19±2,28aB	15,92±0,98bB	37,91±0,73aA
	C1	4,54±0,11deB	4,29±0,05fB	10,07±0,31gA
T3	C2	7,42±0,19cdB	7,36±0,24eB	16,74±0,71eA
	C3	13,27±0,35bB	13,64±0,59cdB	36,34±0,22bcA
	C4	18,19±2,08aB	17,07±0,68abB	37,73±0,49abA
DPPH (mM TROLOX L ⁻¹)				
Controle	-	0,09±0,01gA	0,11±0,00gA	0,06±0,01hB
	C1	0,56±0,05fB	0,74±0,05efA	0,77±0,01gA
T1	C2	0,94±0,02eB	1,53±0,15cdA	1,46±0,07efA
	C3	1,14±0,13deB	2,00±0,14bA	1,85±0,11dA
	C4	1,89±0,22abB	2,84±0,07aA	2,97±0,15aA
	C1	0,54±0,04fB	0,69±0,01efA	0,79±0,05gA
T2	C2	0,96±0,09eB	1,16±0,05dAB	1,35±0,09efA
	C3	1,85±0,17abA	1,75±0,18bcA	2,11±0,10cA
	C4	1,92±0,15aB	2,13±0,27bAB	2,56±0,08bA
	C1	0,47±0,04fB	0,60±0,03fAB	0,76±0,10gA
T3	C2	0,82±0,08efB	1,08±0,10deA	1,24±0,03fA
	C3	1,47±0,08cdA	1,35±0,17cdA	1,58±0,05eA
	C4	1,52±0,11bcB	2,09±0,24bA	2,23±0,06cA
FRAP (mM TROLOX L ⁻¹)				
Controle	-	1,45±0,01fA	1,40±0,09gA	1,42±0,05hA
	C1	8,02±0,39eA	7,87±0,63fA	7,74±0,22gA
T1	C2	13,30±2,13dA	15,46±1,19eA	14,37±0,29fA
	C3	22,61±2,17cA	23,94±0,67bcdA	21,94±1,20deA
	C4	31,90±0,47aA	32,90±3,73aA	31,09±1,83aA
	C1	7,90±0,08eA	7,80±0,25fA	8,10±0,35gA
T2	C2	13,55±1,82dA	13,09±0,18eA	13,63±0,54fA
	C3	24,99±2,00cdA	22,62±1,26cdA	23,79±2,10cdA
	C4	29,33±2,69aA	26,69±1,98bA	28,76±1,30abA
	C1	8,52±0,23eA	7,69±0,10fB	7,49±0,17gB
T3	C2	13,03±0,53dA	13,14±0,42eA	13,17±0,18fA
	C3	22,12±0,12cA	20,26±0,31dB	19,68±0,42eB
	C4	27,70±1,03abA	26,10±1,24bcA	26,53±0,74bcA

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹. Letras minúsculas diferentes na coluna correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos e o dia de armazenamento, letras maiúsculas diferentes na linha correspondem a diferença significativa entre o tratamento e os dias de armazenamento, pelo teste de Tukey (p≤0,05) n = 9.

Tabela 4 - Cor, amargor e sólidos solúveis totais em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Dias de armazenamento		
		1	90	180
Cor (EBC)				
Controle	-	9,90±0,02fC	11,46±0,29eB	12,04±0,25efA
T1	C1	12,12±0,84efB	13,33±0,24deAB	14,61±0,99cdA
	C2	13,34±1,26defA	14,72±1,27cdA	14,55±1,08cdA
	C3	18,58±0,75abB	20,07±1,66aAB	21,69±0,37aA
	C4	18,19±1,11abcA	17,55±0,34bA	18,31±0,37bA
T2	C1	11,98±0,42efB	14,04±0,16cdA	13,48±0,31defA
	C2	12,63±0,48efB	14,39±0,72cdA	14,45±0,51cdeA
	C3	16,70±2,73bcdA	17,08±1,17bA	18,43±1,82bA
	C4	17,42±1,83bcA	17,19±0,28bA	18,36±0,80bA
T3	C1	10,40±0,61fB	13,00±0,49deA	11,71±0,45fA
	C2	13,37±1,04defA	13,35±0,27deA	12,74±0,41defA
	C3	14,76±1,46cdeA	13,91±0,39cdA	14,31±1,17cdeA
	C4	22,33±1,31aA	15,76±0,59bcB	15,97±0,77bcB
Amargor (BU)				
Controle	-	11,38±1,68bcA	14,10±0,54cdA	13,50±1,42dA
T1	C1	6,28±0,60deB	15,30±1,72bcdA	16,68±0,45cA
	C2	12,82±0,62bcB	17,27±2,18abcA	19,82±2,05abA
	C3	9,48±0,71cdB	17,02±1,86bcdA	17,15±0,21bcA
	C4	17,40±0,92aB	20,87±1,44aAB	21,63±1,25aA
T2	C1	12,58±0,53bcA	13,37±0,72dA	13,77±0,53dA
	C2	12,83±1,45bcA	14,60±1,76cdA	16,92±1,17bcA
	C3	12,80±1,41bcB	18,57±1,38abA	19,50±0,39abcA
	C4	14,20±2,03abA	17,33±0,71abcAB	18,45±0,77bcA
T3	C1	5,05±0,48eB	6,82±0,38eA	7,72±0,36fA
	C2	4,27±0,49eB	8,58±0,36eA	9,13±0,96efA
	C3	4,33±0,25eB	8,98±0,35eA	9,17±0,64efA
	C4	5,65±0,28eC	9,50±0,09eB	10,90±0,26deA
Sólidos Solúveis Totais (SST)				
Controle	-	5,00±0,00cA	4,80±0,00cdB	5,00±0,00cA
T1	C1	5,67±0,58bcA	5,13±0,12bcdA	5,53±0,31cA
	C2	5,33±0,61bcA	5,07±0,90bcdA	5,67±0,76bcA
	C3	7,00±0,00aA	6,90±0,10aA	7,10±0,10aA
	C4	5,33±0,31bcA	4,93±0,12bcdA	5,40±0,17cA
T2	C1	5,70±0,44bcA	5,07±0,12bcdA	5,73±0,25bcA
	C2	5,77±0,25bcA	5,00±0,00bcdB	5,70±0,17bcA
	C3	6,17±0,25abA	5,73±0,31bA	6,40±0,36abA
	C4	6,07±0,12bA	5,53±0,42bcA	5,77±0,29bcA
T3	C1	5,00±0,00cA	4,60±0,00dB	4,97±0,06cA
	C2	5,00±0,00cA	4,90±0,00bcdA	5,00±0,00cA
	C3	5,03±0,06cB	5,00±0,00bcdB	5,40±0,00cA
	C4	5,05±0,07cB	5,00±0,00bcdB	5,50±0,00cA

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹. Letras minúsculas diferentes na coluna correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos e o dia de armazenamento, letras maiúsculas diferentes na linha correspondem a diferença significativa entre o tratamento e os dias de armazenamento, pelo teste de Tukey (p≤0,05) n = 9.

Tabela 5 - Teor de espuma, pH e acidez total titulável em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Dias de armazenamento		
		1	90	180
Teor de espuma (%Drenagem)				
Controle	-	37,45±1,18aB	40,92±0,65abAB	42,17±2,65abA
T1	C1	37,38±1,90aB	44,29±3,32aA	42,66±0,35aAB
	C2	37,32±0,79aA	42,10±3,80abA	41,12±1,13abA
	C3	37,33±2,63aA	44,16±1,84aA	43,82±2,84aA
	C4	35,31±1,42aA	36,48±1,55bA	35,52±2,09bA
T2	C1	35,20±2,77aB	44,61±1,96aA	44,14±1,14aA
	C2	37,84±4,56aA	44,12±0,00aA	43,03±3,38aA
	C3	39,55±2,52aB	44,12±0,65aAB	46,93±1,90aA
	C4	38,54±1,83aB	46,22±2,14aA	42,45±3,47abAB
T3	C1	39,02±1,29aB	44,34±0,38aA	44,56±0,77aA
	C2	39,47±1,31aA	41,87±0,67abA	44,98±3,67aA
	C3	38,36±2,87aA	41,31±1,17abA	42,14±2,31abA
	C4	37,43±1,14aB	43,16±2,59aAB	45,52±2,07aA
pH				
Controle	-	4,02±0,16fA	4,11±0,08eA	4,30±0,06cA
T1	C1	4,51±0,07abcAB	4,38±0,04bcdB	4,57±0,05bcA
	C2	4,56±0,12abAB	4,37±0,08bcdB	4,76±0,04abA
	C3	4,70±0,11aAB	4,57±0,08abB	4,81±0,05abA
	C4	4,71±0,14aAB	4,65±0,04aB	4,89±0,02abA
T2	C1	4,31±0,06bcdeB	4,31±0,03cdeB	4,56±0,02bcA
	C2	4,22±0,05defB	4,36±0,09bcdB	4,74±0,05abA
	C3	4,42±0,07bcdA	4,47±0,07abcA	5,09±0,45aA
	C4	4,43±0,06bcdB	4,39±0,17bcdB	4,86±0,08abA
T3	C1	4,14±0,04efB	4,23±0,04deB	4,56±0,07bcA
	C2	4,26±0,01cdefC	4,38±0,02bcdB	4,73±0,01abA
	C3	4,40±0,02bcdeC	4,54±0,03abB	4,88±0,01abA
	C4	4,49±0,03abcdC	4,62±0,03aB	5,00±0,04aA
Acidez Total Titulável (%v/v)				
Controle	-	2,30±0,00cA	1,99±0,27cA	2,30±0,00cA
T1	C1	2,76±0,00abcA	2,61±0,27abcA	2,76±0,00abcA
	C2	2,91±0,27abcA	3,07±0,27abA	2,91±0,27abcA
	C3	3,22±0,00aA	3,22±0,00aA	3,53±0,27aA
	C4	3,07±0,27abA	2,91±0,27abA	3,37±0,27abA
T2	C1	2,76±0,00abcA	2,45±0,27bcA	2,76±0,00abcA
	C2	2,45±0,53bcA	2,76±0,00abA	3,22±0,46abA
	C3	3,07±0,27abA	2,76±0,00abA	3,37±0,53abA
	C4	3,07±0,27abA	2,91±0,27abA	3,37±0,27abA
T3	C1	2,61±0,27abcA	2,45±0,27bcA	2,61±0,27bcA
	C2	2,76±0,00abcA	2,76±0,00abA	2,76±0,00abcA
	C3	3,22±0,00aA	2,91±0,27abA	3,37±0,27abA
	C4	2,99±0,33abcA	2,76±0,00abA	3,07±0,27abcA

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹. Letras minúsculas diferentes na coluna correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos e o dia de armazenamento, letras maiúsculas diferentes na linha correspondem a diferença significativa entre o tratamento e os dias de armazenamento, pelo teste de Tukey (p≤0,05) n = 9.

Tabela 6 - Extrato real e extrato primitivo em cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Dias de armazenamento		
		1	90	180
Extrato real (%m/v)				
Controle	-	3,08±0,05dA	3,01±0,17dA	3,12±0,03dA
	C1	3,52±0,23cdA	3,38±0,33bcdA	3,51±0,23bcdA
T1	C2	3,50±0,48cdA	3,30±0,56bcdA	3,47±0,52bcdA
	C3	4,62±0,14aA	4,47±0,15aA	4,28±0,37aA
	C4	3,40±0,18cdA	3,44±0,15bcdA	3,34±0,15bcdA
	C1	3,55±0,15cdA	3,38±0,29bcdA	3,58±0,17bcdA
T2	C2	3,54±0,10cdA	3,42±0,14bcdA	3,50±0,07bcdA
	C3	4,21±0,18abA	3,87±0,29abA	3,97±0,27abA
	C4	3,82±0,20bcA	3,83±0,19abcA	3,88±0,21abcA
T3	C1	3,10±0,01dB	3,15±0,02cdA	3,17±0,02cdA
	C2	3,22±0,04dA	3,23±0,02bcdA	3,23±0,01cdA
	C3	3,36±0,02cdA	3,34±0,12bcdA	3,33±0,05bcdA
	C4	3,49±0,07cdA	3,50±0,04bcdA	3,49±0,04bcdA
Extrato primitivo (%m/m)				
Controle	-	10,29±0,13bcdA	10,22±0,08bcdA	10,33±0,20bcdA
	C1	10,66±0,62bcdA	10,53±0,68bcdA	10,66±0,62bcdA
T1	C2	10,34±1,60bcdA	10,96±1,27bcA	10,31±1,63bcdA
	C3	13,79±0,14aA	13,64±0,06aA	13,34±0,11aA
	C4	9,83±0,54bcdA	9,88±0,52bcdA	9,80±0,44bcdA
	C1	10,84±0,44bcdA	10,68±0,58bcdA	10,87±0,46bcdA
T2	C2	10,68±0,49bcdA	10,56±0,51bcdA	10,65±0,46bcdA
	C3	11,84±0,28abA	11,37±0,49bA	11,50±0,76abcA
	C4	11,45±0,57bcA	11,47±0,56bA	11,51±0,54abA
T3	C1	9,35±0,16dA	9,40±0,16cdA	9,35±0,12cdA
	C2	9,32±0,04dA	9,33±0,02dA	9,33±0,01dA
	C3	9,51±0,10dA	9,48±0,18cdA	9,47±0,04cdA
	C4	9,58±0,07cdA	9,48±0,21cdA	9,47±0,21cdA

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹; C3: 15 g EM L⁻¹; C4: 20 g EM L⁻¹. Letras minúsculas diferentes na coluna correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos e o dia de armazenamento, letras maiúsculas diferentes na linha correspondem a diferença significativa entre o tratamento e os dias de armazenamento, pelo teste de Tukey (p<0,05) n = 9.

ARTIGO 3:**Análise sensorial de cervejas adicionadas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.)****Sensory analysis of beers added yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.)**

Clarissa Obem dos Santos¹, Márcia Liliane Rippel Silveira¹, Marta Stochero Deprá¹, Cláudia Kaehler Sautter¹, Luisa Helena Rychecki Hecktheuer¹

¹Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria, UFSM – CEP: 97105-900 – Santa Maria – RS – Brasil, Telefone: (55) 3220-8353 – e-mail: clarissa_obem@hotmail.com

RESUMO

A cerveja é uma bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro. Durante as etapas do seu processamento, como na fervura e na maturação, o emprego da erva-mate pode ser realizado com a finalidade de contribuir com as características sensoriais de cor, aroma, sabor e amargor ao produto final. Este estudo teve como objetivo avaliar sensorialmente cervejas adicionadas de erva-mate em diferentes concentrações e etapas do seu processamento. Foram elaboradas três formulações de cervejas com adição de erva-mate tipo chimarrão, composta por 100% de folhas. Tratamento 1, adição no início da etapa de fervura do mosto, Tratamento 2, adição no final da etapa de fervura do mosto e Tratamento 3, adição na maturação das bebidas alcoólicas, além de uma formulação controle. Cada tratamento foi elaborado com duas concentrações de erva-mate, 5 e 10 g EM L⁻¹. As cervejas foram analisadas sensorialmente por meio de testes afetivos de preferência por comparação pareada e de aceitação. Realizou-se ainda a avaliação da intenção de compra do produto e o cálculo do índice de aceitabilidade. No teste de comparação pareada as amostras de cervejas não apresentaram diferença significativa ao nível de significância de 5%. Para o teste de aceitação, a adição de diferentes concentrações de erva-mate durante a fervura do mosto cervejeiro e a maturação das cervejas, contribuíram para a obtenção de bebidas alcoólicas com atributos sensoriais de cor e sabor diferenciados, sem interferir significativamente no aroma, no amargor e na aceitação global das bebidas, apresentando uma boa aceitação por parte dos consumidores. Sendo assim, a elaboração de cerveja com adição de erva-mate constitui uma nova proposta para a indústria de bebidas alcoólicas.

Palavras-chave: Bebida Alcoólica. Erva-mate. Aceitabilidade.

ABSTRACT

Beer is a beverage obtained by alcoholic fermentation of beer wort. During the stages of processing, as in boiling and maturation, the use of yerba mate can be carried out with the purpose of contributing to the color sensory characteristics, aroma, flavor and bitterness to the final product. This study aimed to evaluate sensory beers added yerba mate at different levels and stages of processing. Three beers formulations were prepared with the addition of yerba mate chimarrao type, consisting of 100% leaves. Treatment 1, added at the start of the wort boiling step, Treatment 2, adding at the end of the wort boiling step and Treatment 3, in addition maturing alcoholic beverages in addition to a control formulation. Each treatment was prepared with two yerba mate concentrations, 5 and 10 g YM L⁻¹. The beers were analyzed by sensory test affective preferably by paired comparison and acceptance. It is further performed to evaluate the purchase intention of the product and calculate the ratio of acceptability. In paired comparison test the beer samples showed no significant difference at a significance level of 5%. For the acceptance test, the addition of yerba mate concentrations during boiling the beer wort and maturation of beer, contributed to obtain alcoholic beverages with color sensory attributes and distinct flavor without significantly interfering with the aroma in bitterness and global acceptance of drinks and offer great acceptance by consumers. Thus, the preparation of beer with yerba mate addition is a new proposal for the alcohol industry.

Key words: Alcoholic Beverage. Yerba Mate. Acceptability.

INTRODUÇÃO

A cerveja é definida segundo a legislação brasileira como a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura e com adição de lúpulo. O uso de outros cereais, chamados de adjuntos é permitido pela lei, cujo emprego não poderá ser superior a quarenta e cinco por cento em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 2009).

Segundo Linko et al., (1998) e Rebello (2009) o processamento da cerveja é composto pelas etapas de malteação, mosturação, fermentação e processamento final da bebida. Na malteação, ocorre a transformação de cevada em malte, através dos processos de maceração, germinação, secagem e tostagem da cevada, em condições controladas de temperatura, umidade e aeração. A mosturação ou produção do mosto cervejeiro é caracterizada pela extração e hidrólise dos componentes da cevada malteada seguido de uma separação dos componentes insolúveis e posterior fervura com a adição de lúpulo, após ocorre a etapa de fermentação, dividida em primária e maturação. No processamento final são realizadas as etapas de filtração, estabilização, engarrafamento e pasteurização.

Durante as etapas do processamento, outras matérias-primas podem ser empregadas com a finalidade de reduzir custos de produção, à partir de adjuntos, melhorar a qualidade físico-química ou ainda melhorar a qualidade sensorial das bebidas. Na literatura, alguns trabalhos citados com o emprego de outras matérias-primas, além das tradicionais, incluem hidrolisados de milho e de mandioca (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1998), extrato de malte na forma de xarope e em pó (SLEIMAN; VENTURINI FILHO, 2004), malte de milho (SEVERO Jr et al., 2005), cevada e maltose de milho (CURI et al., 2008; CURI; VENTURINI FILHO; NOJIMOTO, 2009), banana (CARVALHO et al., 2009), polpa de murici (ARRUDA; JUNIOR; GOULART, 2013), arroz, milho e malte de sorgo (BATHKE; DRESCH; SOUZA, 2013), mel (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014) e pinhão (BATISTA; SILVA, 2015).

A erva-mate pertence à família Aquifoleaceae e ao gênero *Ilex*, tem sua origem nativa na América do Sul, nos países Argentina, Paraguai e Brasil, neste distribuído nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Das folhas secas desta planta produz-se o tererê e o chimarrão, bebidas elaboradas com água fria e quente, respectivamente e com as folhas secas e torradas prepara-se o chá mate (FILIP et al., 2000; MACHADO et al., 2007). Dependendo da concentração e, principalmente, das condições do processamento, a

erva-mate pode ser utilizada como matéria-prima para a elaboração de bebidas alcoólicas, contribuindo para o desenvolvimento de novos produtos.

Nas etapas de processamento da cerveja, como na fervura e na maturação, o emprego da erva-mate pode ser realizado com a finalidade de contribuir com características sensoriais de cor, aroma, sabor e amargor ao produto final. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar sensorialmente cervejas adicionadas de erva-mate em diferentes concentrações e etapas do seu processamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Elaboração das cervejas

Para a elaboração das cervejas foram utilizados malte do tipo Château Pale Ale (160 g L⁻¹ de água destilada) de origem belga, lúpulo de amargor Hallertau Magnum (1,5 g L⁻¹ de mosto) com teor de α -ácidos de 12,20%, lúpulo de aroma Saaz (0,210 g L⁻¹ de mosto) com teor de α -ácidos de 2,74%, oriundos da Alemanha e da República Tcheca, respectivamente, ambos na forma de pellet, e levedura *Saccharomyces cerevisiae* de alta fermentação (Fermentis Safale US-05) (0,5 g L⁻¹ de mosto).

Foram elaboradas três formulações de cervejas com adição de erva-mate tipo chimarrão, composta por 100% de folhas, sem adição de açúcar. No Tratamento 1 (T1) a erva-mate foi adicionada no início da etapa de fervura, junto com o lúpulo de amargor, permanecendo trinta e cinco minutos em ebulição; Tratamento 2 (T2), com adição de erva-mate cinco minutos antes do final da etapa de fervura, junto com o lúpulo de aroma, permanecendo cinco minutos em ebulição; e Tratamento 3 (T3), com adição de erva-mate na maturação das cervejas, permanecendo quatorze dias em contato com a mesma; além de uma formulação controle, sem adição de erva-mate. Cada tratamento (T1, T2 e T3) foi elaborado com duas concentrações de erva-mate, 5 e 10 gramas de erva-mate por litro de mosto (g EM L⁻¹ de mosto), denominadas de C1 e C2, respectivamente, totalizando seis unidades amostrais e um controle. O experimento foi realizado em triplicata. As formulações foram elaboradas de acordo com a Figura 1.

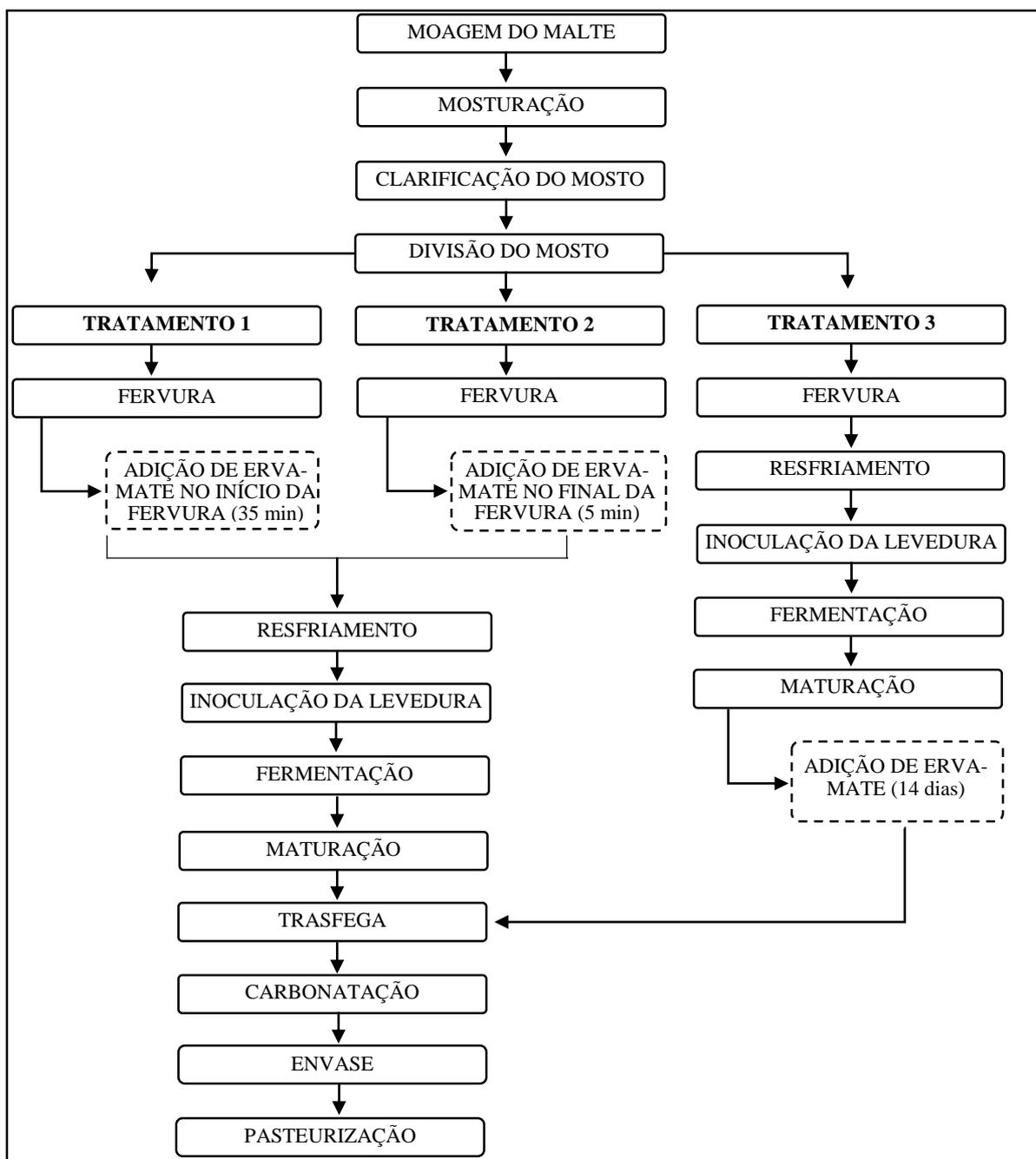


Figura 1 - Fluxograma do processamento das cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Para a elaboração das cervejas, primeiramente o malte foi triturado em moinho de dois rolos, após realizou-se o processo de mosturação, de acordo com a rampa de temperatura e tempo apresentados na Figura 2 (VENTURINI FILHO, 2010).

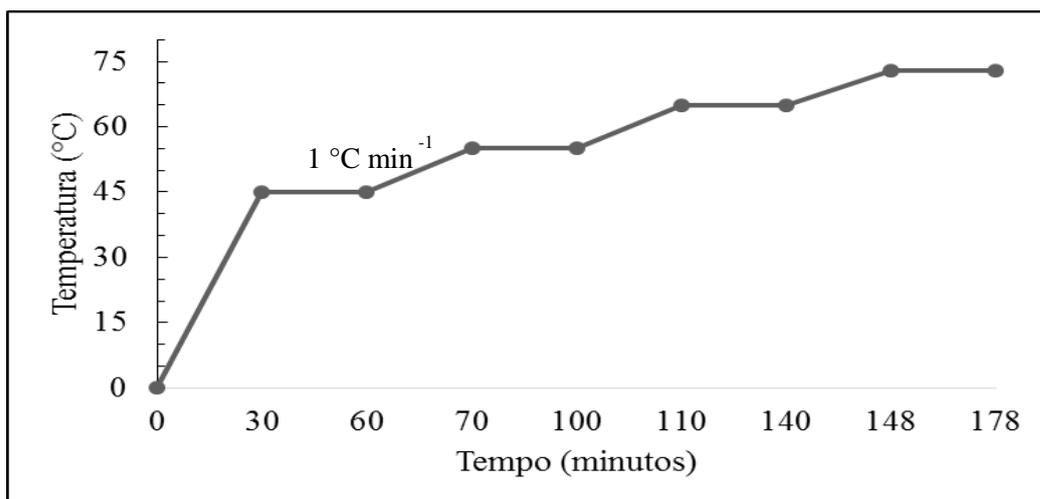


Figura 2 - Rampa de temperatura e tempo do processo de mosturação das cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Inicialmente, a água destilada foi aquecida até 45 °C, após adicionou-se o malte triturado e homogeneizou-se. As temperaturas utilizadas (45, 55, 65 e 73 °C) permaneceram constantes por trinta minutos, sendo a elevação de cada temperatura realizada a 1 °C por minuto, em sistema fechado.

Após a mosturação realizou-se a clarificação do mosto, nesta etapa foi retirado o resíduo de malte com auxílio de peneira, o mosto restante foi então mensurado em proveta e completado o seu volume inicial com água destilada aquecida a 73 °C, realizando-se lavagens no resíduo de malte. O mosto combinado foi então submetido a etapa de fervura por um período de 35 minutos, no início desta foi adicionado o lúpulo de amargor, neste momento também adicionou-se a erva-mate do Tratamento 1, e nos cinco minutos finais adicionou-se o lúpulo de aroma, seguido da adição de erva-mate do Tratamento 2. Após a fervura, o mosto foi resfriado em banho de gelo até atingir 20 °C, após o resfriamento inoculou-se a levedura, previamente ativada em água à 22 °C ± 2 °C. A fermentação foi realizada em garrafas de polietilenotereftalato (PET) de 500 mL, ao abrigo da luz, a 20 °C ± 2 °C. O acompanhamento dos sólidos solúveis totais (SST) foi monitorado diariamente, até estabilização dos seus valores (°Brix), sendo determinado o final da fermentação quando os SST apresentaram-se constantes, por aproximadamente três dias.

Concluída a fermentação, as bebidas foram maturadas por quatorze dias à 4 °C, nesta etapa foi adicionada a erva-mate do Tratamento 3. Após a maturação realizou-se a trasfega, onde o resíduo de levedura foi separado do mosto com auxílio de peneira. Em seguida, as cervejas foram carbonatadas com 6 g de sacarose L⁻¹ e engarrafadas em garrafas de vidro âmbar de 300 mL. As garrafas permaneceram a 22 °C por quatorze dias. Por fim, foram submetidas ao processo de pasteurização em banho-maria a 60 ± 1 °C por 20 minutos, temperatura e tempo

referentes a 20 unidades de pasteurização (UP), seguido de resfriamento em água a 20 °C. As análises sensoriais foram realizadas no dia 1 após a pasteurização das bebidas.

Avaliação sensorial das cervejas

As formulações de cervejas elaboradas foram submetidas aos testes sensoriais afetivos: de preferência por comparação pareada e de aceitação. Os testes foram realizados em duas sessões em sala com cabines individuais, nas dependências do laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As amostras de cervejas foram servidas em copos descartáveis transparentes de 50 ml, à temperatura de 6 °C, devidamente identificados com números de três dígitos aleatórios. Adicionalmente, foi oferecido aos provadores um biscoito de água e sal e um copo com água à temperatura ambiente para proporcionar a limpeza das papilas gustativas entre os intervalos de avaliação de cada amostra (FERREIRA et al., 2000).

As análises sensoriais foram realizadas por alunos e funcionários da instituição, recrutados localmente em caráter totalmente voluntário, informados verbalmente e por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dos objetivos, benefícios e riscos da participação na pesquisa, bem como esclarecidos sobre a total confidencialidade dos dados.

Na primeira sessão foi aplicado o teste afetivo de preferência por comparação pareada, tendo por objetivo determinar entre duas amostras do mesmo tratamento qual é a preferida (FERREIRA et al., 2000). Esse teste foi conduzido com um grupo de 68 indivíduos adultos, não treinados, de ambos os gêneros. Duas amostras de cada tratamento, T1C1 e C2, T2C1 e C2 e T3C1 e C2, foram apresentadas simultaneamente ao provador para que ele escolhesse a amostra de sua preferência.

O teste afetivo de aceitação foi realizado em uma segunda sessão, com as amostras preferidas no teste de preferência por comparação pareada e uma formulação controle. As amostras foram codificadas e apresentadas de forma monádica e casualizada a um grupo de 70 provadores. Os provadores foram instruídos a avaliarem cada amostra individualmente em relação aos atributos de cor, aroma, sabor, amargor e aceitação global, utilizando uma escala hedônica estruturada verbal de sete pontos (1 = desgostei muitíssimo, 2 = desgostei muito, 3 = desgostei, 4 = indiferente, 5 = gostei, 6 = gostei muito e 7 = gostei muitíssimo). Nesta mesma sessão também foi aplicado o teste de intenção de compra do produto, onde os provadores expressaram sua intenção em adquirir o produto (IAL, 2008) por meio de uma escala de intenção de compra verbal de cinco pontos (5 = certamente eu compraria, 4 = provavelmente

eu compraria, 3 = talvez eu compraria/talvez eu não compraria, 2 = provavelmente eu não compraria e 1 = certamente eu não compraria) (FERREIRA et al., 2000).

Também foi calculado o Índice de Aceitabilidade (IA) do produto, através da seguinte equação: $IA (\%) = A \times 100/B$, onde A representa a nota média obtida para o produto e B a nota máxima da escala utilizada para avaliar o produto. O IA com boa repercussão têm sido considerado $\geq 70\%$ (DUTCOSKY, 1996).

Para a realização da avaliação sensorial, o projeto foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS), sendo aprovado (CAAE 38075814.8.0000.5346) em seus aspectos éticos e metodológicos atendendo as Diretrizes estabelecidas na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012).

Determinação de cor

A determinação da cor foi realizada de acordo com a *European Brewery Convention* (EBC, 1987). Amostras de cervejas descarbonatadas em banho ultrassônico com frequência de 40 KHz (*Ultra Sonic Clean*, modelo USC 1600) foram lidas em triplicatas em espectrofotômetro UV-visível (FEMTO® 600 plus) no comprimento de onda de 430 nm e calculada de acordo com a equação: $EBC = \text{Absorbância}_{430} \times 25$.

Determinação de unidades de amargor

A análise global de amargor, expressa como *Bitterness Units* (BU), foi determinada após extração com isooctano (2,2,4-trimetilpentano) em amostras de cervejas descarbonatadas, acidificadas com HCl 6N, seguido de medição espectrofotométrica (FEMTO® 600 plus) em comprimento de onda de 275 nm e calculado de acordo com a equação: $BU = \text{Absorbância}_{275} \times 50$ (EBC, 1987).

Análise estatística

Os resultados do teste de comparação pareada de preferência foram analisados através da tabela de distribuição binomial-bicaudal, a qual estabelece o mínimo de julgamentos corretos para estabelecer significância em vários níveis de probabilidade (FERREIRA et al., 2000). Os

resultados obtidos para o teste de aceitação foram expressos na forma de média±desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA). A análise comparativa dos resultados foi realizada por meio do teste de Tukey ao nível de significância de 5%, utilizando o programa estatístico *Statistic* versão 9.0 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA). Os resultados do teste de intenção de compra foram expressos em porcentagem, de acordo com a frequência das respostas (IAL, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O painel de provadores dos testes afetivos de preferência por comparação pareada e de aceitação contaram com a presença de 68 e 70 participantes não treinados, na primeira e na segunda sessão, respectivamente. Nas duas sessões das análises sensoriais predominaram provadores do gênero feminino (65 e 56%), e em ambas as análises, os provadores em sua maioria apresentaram-se na faixa etária compreendida entre 18 e 25 anos (65 e 67%), seguida da faixa etária de 26 e 35 anos (26 e 23%).

Em relação ao teste afetivo de preferência por comparação pareada, são apresentados na Tabela 1 o número de respostas obtidas para as formulações de cervejas. Conforme Ferreira et al., (2000) o número de resposta mínimo para estabelecer preferência ao nível de significância de 5%, utilizando 68 provadores, é de 43. De acordo com o número de respostas obtidos, as amostras dos tratamentos T1, T2 e T3, com adição de concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹ de cerveja não apresentaram diferença significativa ao nível de significância de 5%, não sendo possível identificar a amostra preferida de cada tratamento.

Tabela 1 - Número de respostas obtidas para as formulações de cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) no teste afetivo de preferência por comparação pareada.

Tratamentos	Concentrações	Número de respostas	% Número de respostas
T1	C1	37	54,4
	C2	31	45,6
T2	C1	28	41,2
	C2	40	58,8
T3	C1	37	54,4
	C2	31	45,6

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹.

Embora os resultados não tenham diferido estatisticamente, 54,4% dos provadores preferiram as amostras dos tratamentos T1C1 e T3C1, enquanto que 58,8% preferiram o

tratamento T2C2 (Tabela 1). Nos tratamentos T1 e T3, com adição de erva-mate no início da fervura do mosto e na maturação, respectivamente, preferiu-se as cervejas com menor concentração de erva-mate (5 g EM L⁻¹ de cerveja). Apesar de não diferirem, provavelmente, maiores concentrações de erva-mate nos tratamentos T1 e T3 não foram sensorialmente preferidas devido ao maior tempo de contato da mesma nas bebidas, 30 minutos e 14 dias, respectivamente.

Observamos que o Tratamento 2, com adição de 10 g EM L⁻¹ de cerveja (C2), obteve maior percentual de respostas, possivelmente em função da erva-mate ser adicionada nos cinco minutos finais da fervura do mosto. Os comentários nas fichas de avaliação sensorial indicam que neste tratamento foi possível perceber que uma concentração maior de erva-mate nas cervejas contribuíram para o amargor, enquanto que o Tratamento 2, com adição de 5 g EM L⁻¹ de cerveja (C1) ficou sensorialmente parecido com uma cerveja comercial “normal”.

Deste modo, apesar de todos os tratamentos apresentarem as mesmas concentrações dos lúpulos de amargor e aroma, foi possível verificar por este teste que a maior concentração de erva-mate (10 g EM L⁻¹) no Tratamento 2, contribuiu para a preferência sensorial desta cerveja, tornando-a diferente das cervejas comerciais tradicionais.

No teste afetivo de aceitação foram oferecidas aos provadores a formulação de cerveja de cada tratamento que apresentou maior número de resposta, quando aplicado o teste afetivo de preferência por comparação pareada (T1C1, T2C2 e T3C1), além de uma formulação controle. Os escores médios obtidos para os atributos sensoriais avaliados no teste de afetivo de aceitação das cervejas são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Escores médios dos atributos sensoriais avaliados no teste de aceitação das cervejas elaboradas com diferentes concentrações de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Atributos sensoriais	Tratamentos			
	Controle	T1C1	T2C2	T3C1
Cor	5,43±1,06ab	5,73±0,99a	5,66±1,01ab	5,23±1,11b
Aroma	4,91±1,19a	5,04±1,08a	5,19±0,98a	5,30±1,08a
Sabor	4,89±1,23ab	4,70±1,39b	4,64±1,25b	5,33±1,13a
Amargor	4,93±1,25a	4,73±1,28a	4,57±1,50a	4,86±1,28a
Aceitação global	5,10±1,08a	4,81±1,25a	4,79±1,23a	5,21±1,02a

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹. Escores: 7 – gostei muitíssimo; 6 - gostei muito; 5 - gostei; 4 - indiferente; 3 - desgostei; 2 - desgostei muito; 1 - desgostei muitíssimo. Médias na mesma linha com letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Em relação ao atributo cor, todos os tratamentos apresentaram escore de aceitação correspondendo ao termo hedônico da escala “gostei”. Os escores médios de aceitação para o

atributo cor obtidos no teste afetivo demonstram que a cerveja do tratamento T1C1, com adição de 5 g EM L⁻¹ na etapa inicial de fervura do mosto, é estatisticamente diferente do tratamento T3C1, não diferindo do tratamento T2C2 e da cerveja controle. Isto pode ter ocorrido devido, no processamento da cerveja, este tratamento permanecer por maior tempo em contato com o mosto cervejeiro na etapa de fervura. O tempo de fervura também pode estar relacionado com a degradação da clorofila que confere cor verde a erva-mate, tornando perceptível a cerveja mais escura que as demais, quando analisada pelos provadores.

Em relação aos atributos sensoriais de aroma, amargor e aceitação global os provadores mostraram respostas similares para os tratamentos de cerveja, pois estes não apresentaram diferença estatística ao nível de significância de 5%. No entanto, no atributo aroma, os Tratamentos 1, 2 e 3 apresentaram escores médios situando-se no 5, valor correspondente ao termo “gostei” na escala hedônica estruturada de sete pontos.

Quanto ao atributo sabor, o Tratamento 3, adicionado de 5 g EM L⁻¹ durante a etapa de maturação das cervejas, obteve o maior escore médio de aceitação em relação a este atributo, diferindo estatisticamente dos tratamentos T1C1 e T2C2, porém igual a cerveja controle. Entretanto, para este atributo apenas o Tratamento 3 apresentou boa aceitação global pelos provadores, com escore de aceitação correspondendo ao termo hedônico “gostei”.

Mello et al., (2009), ao analisarem sensorialmente uma bebida gaseificada com adição de extrato de erva-mate verde obtiveram média de 6,88, correspondente ao termo hedônico gostei em uma escala com o valor máximo de nove pontos, alcançando boa aceitação entre os julgadores. Este resultado indica o potencial da erva-mate para utilização em outros tipos de bebidas, além das tradicionais chimarrão, tererê e chá mate.

Araújo, Silva e Minim (2003) ao compararem duas cervejas tipo *Pilsen* produzidas em microcervejaria com duas cervejas tipo *Pilsen* líderes de mercado, observaram que as cervejas de microcervejaria possuem maior intensidade dos atributos sensoriais, diferenciando-se na cor, no aroma de levedura, no gosto doce e no sabor amargo. No entanto, ao analisarem a aceitabilidade através de escala hedônica de nove pontos (1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente) de duas marcas de cerveja produzida em microcervejaria e uma marca líder de mercado, todas tipo *Pilsen*, as amostras não apresentaram diferença significativa em relação a aceitação, situando-se entre os termos hedônicos “gostei muito” e “gostei ligeiramente”, esses resultados contrariam o esperado, pois as microcervejarias produzem uma cerveja mais artesanal e de maior atração para o consumidor. Em nossa pesquisa, as cervejas com adição de erva-mate dos tratamentos, T1C1 para o atributo sensorial cor, e T3C1 para os

atributos aroma, sabor e aceitação global, apresentaram valores médios maiores quando comparados com a cerveja controle.

Curi et al., (2008) verificaram que cervejas, produzidas com 60% de malte e 40% de maltose de milho, apresentaram maior aceitação quando comparadas com cervejas que tiveram o malte substituído por cevada, pois 10, 20 e 30% de cevada interferiram negativamente na qualidade sensorial da cerveja. Enquanto que, Curi, Venturini Filho e Nojimoto (2009) observaram que cervejas elaboradas com 100% de malte analisadas sensorialmente pelo teste de aceitação global (escala hedônica estruturada de nove pontos) apresentaram maior escore médio (7,4) que cervejas com substituição de malte por 20, 40 e 50%, com teores médios de 6,3, 6,0 e 4,9, respectivamente, não indicando a substituição parcial do malte por cevada na fabricação de cervejas. Esses estudos mostram que mudanças na formulação de cervejas, como substituição de malte por cevada, não contribuíram sensorialmente para a qualidade final do produto. No entanto, os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a adição de matérias-primas, como a erva-mate, em diferentes etapas do processamento das cervejas, como na fervura e na maturação, não interferiram na qualidade sensorial em comparação com a formulação controle (Tab. 2).

Em relação ao índice de aceitabilidade das cervejas elaboradas com adição de erva-mate (Figura 3), verificou-se que para os parâmetros sensoriais avaliados os valores, na sua maioria, foram superiores a 70%, com exceção dos atributos de sabor para os tratamentos controle (69,80%), T1C1 (67,14%) e T2C2 (66,33%), de amargor para os tratamentos T1C1 (67,55%), T2C2 (65,31%) e T3C1 (69,39%), e de aceitação global para os tratamentos T1C1 (68,78%) e T2C2 (68,37%).

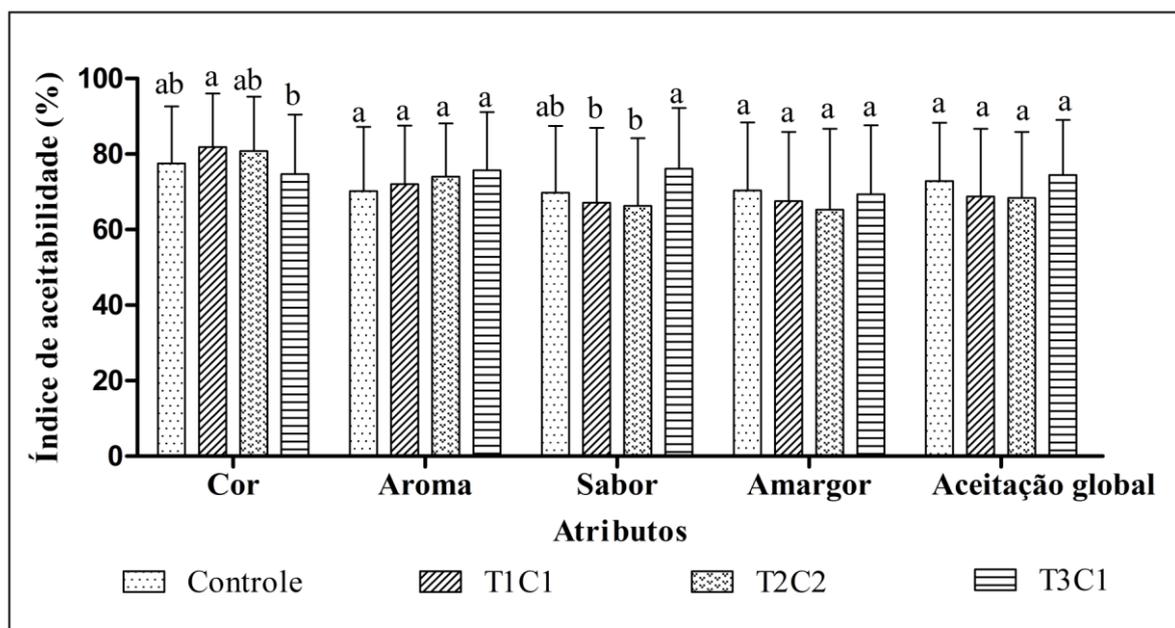


Figura 3 - Índice de aceitabilidade (%) em relação aos atributos sensoriais avaliados nas cervejas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹. Barras com letras diferentes indicam que as amostras diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os tratamentos T1 e T2 com 5 e 10 g EM L⁻¹, respectivamente, apresentaram os maiores índices de aceitabilidade para os atributos de cor (81,84 e 80,82%, respectivamente) sem diferença estatística entre os tratamentos. Para o atributo aroma, os Tratamentos 2 e 3 obtiveram 74,08 e 75,71% de aceitabilidade, sem diferir estatisticamente. Para o atributo sabor apenas o Tratamento 3 apresentou índice superior a 70% (76,12%), diferindo dos Tratamentos 1 e 2. No atributo amargor a cerveja controle obteve maior índice de aceitabilidade (70,41%), para a aceitação global a cerveja controle (72,86%) e o Tratamento 3 (74,49%) apresentaram os maiores índices de aceitabilidade sem diferença estatística dos demais tratamentos para esses atributos.

Em geral, os resultados obtidos para a aceitabilidade demonstram que a adição de diferentes concentrações de erva-mate em diferentes etapas do processamento da cerveja, não interferiram negativamente na qualidade sensorial das cervejas. Desta forma, as bebidas formuladas com adição de erva-mate podem ser viáveis comercialmente, pois apresentaram índice de aceitabilidade acima de 70% para os atributos cor e aroma para todos os tratamentos, destacando o tratamento T3C1, com adição de erva-mate na maturação, que apresentou índice de aceitabilidade superior também para os atributos de sabor e aceitação global.

Na Figura 4 está demonstrada a intenção de compra das cervejas analisadas. Os Tratamentos 1 e 3 apresentaram os maiores percentuais de respostas para a atitude de intenção

de compra “provavelmente eu compraria”, com 33 e 41%, respectivamente, seguido do Tratamento 2, onde 27% dos provadores certamente comprariam o produto avaliado. A cerveja controle obteve maior percentual de respostas para a atitude “talvez eu compraria/talvez eu não compraria”. Apenas 6% dos provadores indicaram certeza em não comprar as cervejas dos Tratamentos 1 e 2.

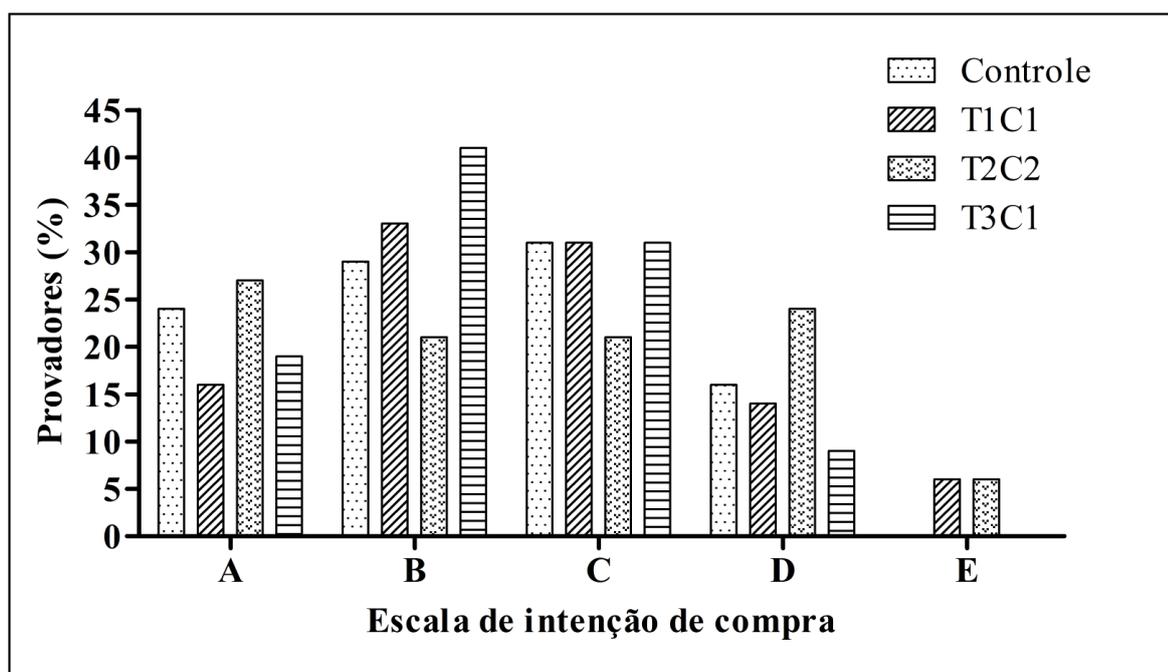


Figura 4 - Intenção de compra das cervejas elaboradas com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹. Escala de atitude: A-certamente eu compraria; B-provavelmente eu compraria; C-talvez eu compraria/talvez eu não compraria; D-provavelmente eu não compraria; E-certamente eu não compraria.

Os resultados da intenção de compra deste trabalho assemelham-se aos encontrados por Barboza (2006). Ao analisar sensorialmente uma bebida desenvolvida à base de erva-mate enriquecida com polidextrose, 54% dos julgadores de Curitiba provavelmente comprariam o produto e 46% certamente comprariam, enquanto que 64% dos julgadores de São Mateus do Sul comprariam o produto e 36% certamente comprariam, indicando que o produto apresenta potencial de mercado e também, um novo nicho de mercado para a erva-mate.

Resultados das análises espectrofotométricas de cor e amargor das cervejas analisadas sensorialmente são apresentados na Tabela 3. Quando comparados os resultados do atributo sensorial cor do teste de aceitação (Tabela 2) com a análise espectrofotométrica de cor (Tabela 3), observa-se resultados diferentes dos obtidos na análise sensorial. O tratamento T1C1 não

diferiu dos tratamento T2C2 e T3C1 porém, por esta análise, o tratamento T1C1 apresentou diferença estatística em relação a amostra controle.

Tabela 3 - Teores de cor e amargor das cervejas adicionadas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.).

Tratamentos	Concentrações	Cor (EBC)	Amargor (BU)
Controle	-	9,90±0,02c	11,38±1,68a
T1	C1	12,12±0,84ab	6,28±0,60b
	C2	13,34±1,26a	12,82±0,62a
T2	C1	11,98±0,42abc	12,58±0,53a
	C2	12,63±0,48a	12,83±1,45a
T3	C1	10,40±0,61bc	5,05±0,48b
	C2	13,37±1,04a	4,27±0,49b

T1: erva-mate adicionada com o lúpulo de amargor; T2: erva-mate adicionada com o lúpulo de aroma; T3: erva-mate adicionada na maturação; C1: 5 g EM L⁻¹; C2: 10 g EM L⁻¹. Médias na mesma coluna com letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Em relação a análise espectrofotométrica de amargor (Tabela 3), são quantificados os iso- α -ácidos totais presentes no lúpulo, formados durante a etapa de processamento de fervura das cervejas. O lúpulo é constituído de 2,0 a 16,0% de α -ácidos, dependendo da variedade da planta (NOONAN, 1996). Durante a etapa de fervura, os α -ácidos são isomerizados com o calor, produzindo os iso- α -ácidos, esses compostos tem sido relacionados com a intensidade do amargor em cervejas (TECHAKRIENGKRAIL et al., 2004).

O Tratamento 1, quando adicionado de maior concentração de erva-mate no início da fervura (C2) apresentou diferença significativa quanto ao teor de amargor. É possível verificar que o tratamento T2C2 apresentou teor de amargor maior que o tratamento T2C1, mas não apresentou diferença significativa ao nível de significância de 5%.

A adição de diferentes concentrações de erva-mate durante a etapa de maturação das cervejas (T3) acarretou em bebidas com valores inferiores de amargor. Este resultado não era esperado, pois a quantidade de lúpulo adicionada foi a mesma em todos os tratamentos. É possível que os componentes da erva-mate tenham interagido com as resinas amargas do lúpulo durante a maturação das cervejas, período que a erva-mate esteve por 14 dias em contato com a bebida. Comportamento semelhante na redução do índice de amargor foi observado por Brunelli, Mansano e Venturini Filho, (2014) em cervejas elaboradas com mel.

Na erva-mate não são encontrados os iso- α -ácidos, estando de acordo os resultados encontrados para os Tratamentos 2 e 3, que não diferiram com o aumento da concentração de erva-mate. Possivelmente o Tratamento 1 tenha apresentado teores elevados e significativos quando adicionou-se maior quantidade de erva-mate devido ao maior tempo de permanência na etapa de fervura. Santos et al., (2014) ao analisarem extratos aquosos de diferentes tipos de

ervas-mate comerciais observaram que trinta minutos de extração à 85 °C favoreceram a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais. Estes compostos podem estar relacionados com o amargor das cervejas no tratamento T1C2, quando uma concentração maior de erva-mate permaneceu por mais tempo na etapa de fervura, afetando sensorialmente o sabor e o amargor das cervejas analisadas sensorialmente pelo teste afetivo de preferência por comparação pareada.

CONCLUSÃO

Os resultados do teste de comparação pareada demonstram que as amostras de cervejas dos tratamentos estudados, com adição de diferentes concentrações de erva-mate, não apresentam diferença significativa ao nível de significância de 5%.

No teste de aceitação a adição de diferentes concentrações de erva-mate durante a fervura do mosto cervejeiro e a maturação das cervejas, contribuem para a elaboração de bebidas alcoólicas com atributos sensoriais de cor e sabor diferenciados, sem interferir significativamente no aroma, no amargor e na aceitação global das bebidas, apresentando uma boa aceitação por parte dos consumidores.

Sendo assim, a elaboração de cerveja com adição de erva-mate constitui uma nova proposta para a indústria de bebidas alcoólicas.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A; MINIM, V. P. R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 121-128, 2003.

ARRUDA, I. N. Q.; JUNIOR, V. A. P.; GOULART, G. A. S. Produção de cerveja com adição de polpa de murici (*Byrsonima ssp.*). **Interdisciplinar: Revista Eletrônica da UNIVAR**, v. 2, n. 10, p. 129-136, 2013.

BARBOZA, L. M. V. **Desenvolvimento de bebida à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) adicionada de fibra alimentar**. 2006. 215 f. Tese (Doutorado em Tecnologia em Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

BATHKE, L. D.; DRESCH, M. R.; SOUZA, C. F. V. Elaboração e avaliação de alguns aspectos da qualidade de cerveja isenta de glúten. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 11-19, 2013.

BATISTA, R. A.; SILVA, J. B. A. Evaluation of the proportion malt: “pinhão” (*Araucariaangustifolia*): Effect on acceptance in sensory analysis. **European International Journal of Science and Technology**, v. 4, n.3, p. 150-156, 2015.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres Humanos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 13 jun. 2013.

BRASIL. Decreto n. 6.871 de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2009.

BRUNELLI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19-27, 2014.

CARVALHO, G. B. et al. Banana as adjunct in beer production: applicability and performance of fermentative parameters. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 155, n. 1, p. 53-62, 2009.

CURI, R. A. et al. Produção de cerveja utilizando cevada e maltose de milho como adjunto de malte: análises físico-química, sensorial e isotópica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 4, p. 279-287, 2008.

CURI, R. A.; VENTURINI FILHO, W. G.; NOJIMOTO, T. Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte: análises físico-química e sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 106-112, 2009.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123p.

EBC, European Brewery Convention. **Analytica EBC**. 4th ed. Zürich: Bräueri-und Getränke-rundschau, 498p, 1987.

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. 127p. (Manual – Série Qualidade).

FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p.1437-1446, 2000.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p.

LINKO, M. et al. Recent advances in the malting and brewing industry. **Journal of Biotechnology**, v. 65, n. 2-3, p. 85-98, 1998.

MACHADO, C. C. B. et al. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 513-518, 2007.

- MELLO, A. C. B. et al. Bebida gaseificada de erva-mate verde. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 19-26, jan./jun. 2009.
- NOONAN, G. J. **New brewing lager beer**. Boulder: Brewers Publications, 1996. 363p.
- REBELLO, F. F. P. Produção de cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, p. 145-155, dez. 2009.
- SANTOS, C. O. et al. Caracterização, teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em diferentes tipos de erva-mate para chimarrão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 1, p. 77-86, 2014.
- SEVERO Jr, J. B. et al. Estudo do efeito da levedura sobre a qualidade da cerveja de milho (Zea Mays). **Brazilian Journal of Food Technology**, 5° SIPAL, 2005.
- SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W. G. Utilização de extratos de malte na fabricação de cerveja: avaliação físico-química e sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 145-153, 2004.
- TECHAKRIENGGKRAIL, I. et al. Relationships of sensory bitterness in *lager* beers to iso-alfa-acid contents. **Journal of the Institut of Brewing**, v. 110, n. 1, p. 51-56, 2004.
- VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. vol.1. São Paulo: Blucher, p. 15- 50, 2010.
- VENTURINI FILHO, W. G; CEREDA, M. P. Hidrolisado de fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 156-161, 1998.

4 DISCUSSÃO GERAL

Diversas matérias-primas para adição em cervejas vem sendo estudadas, com a finalidade de contribuir, principalmente, com características físico-químicas e sensoriais, tornando o produto final diferenciado, tais como, cervejas adicionadas de banana (CARVALHO et al., 2009), mel (BRUNELLI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014) e pinhão (BATISTA; SILVA, 2015).

Nesta pesquisa, inicialmente estudou-se, à partir de elaboração de extratos aquosos, empregando-se rampas de temperaturas e tempos utilizados nas etapas de mosturação e fervura da cerveja, os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante de diferentes tipos de ervas-mate comerciais para o uso na bebida chimarrão (Artigo 1). Os extratos aquosos elaborados apresentaram teores relevantes de compostos fenólicos totais, flavonoides totais, assim como alta capacidade antioxidante, sendo capazes de contribuir significativamente para a composição fenólica e capacidade antioxidante quando adicionados nas temperaturas de 73 e 100 °C utilizadas no processamento da cerveja.

Entre os tipos de ervas-mate processadas e comercializadas para o consumo de chimarrão analisadas (Artigo 1), o produto constituído por 100% de folhas da planta foi utilizado como matéria-prima na elaboração de cervejas (Artigo 2), com a finalidade de aumentar os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante da bebida alcoólica, além de contribuir sensorialmente (Artigo 3) com o produto final. Quando adicionada na formulação de cervejas, a erva-mate composta por 100% de folhas contribuiu com um aumento no teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais diretamente proporcional a concentração de erva-mate adicionada.

Comparando os resultados dos teores de compostos fenólicos totais, da erva-mate composta por 100% de folhas, na extração à 100 °C por cinco minutos, obtidos no Artigo 1 (Tabela 3), com os resultados da cerveja do tratamento com adição de erva-mate junto com o lúpulo de aroma, nos cinco minutos finais da fervura do mosto cervejeiro (T2), excluindo-se o teor de fenólicos encontrado para a cerveja controle (Fig. 4A/Tab. 2), constata-se que as cervejas do T2 apresentaram teores de compostos fenólicos semelhantes aos obtidos nos extratos aquosos de erva-mate para as concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹, 0,53 e 1,03 g EAG L⁻¹ na cerveja, quando comparado ao extrato aquoso nas mesmas condições, 0,51 e 1,04 EAG L⁻¹, respectivamente. Entretanto, nas concentrações de 15 e 20 g EM L⁻¹, os valores foram 30,8 e 19,6% superiores, respectivamente. Os teores de compostos fenólicos totais superiores obtidos na cerveja, quando comparados com os extratos da erva-mate, ambos nas mesmas

condições, podem estar relacionadas com o meio alcoólico das bebidas, devido ao aumento de sólidos solúveis totais provenientes da desglicosilação dos compostos fenólicos da erva-mate e precipitação de proteínas durante o processamento. Comportamento semelhante foi observado para os resultados da análise de flavonoides totais. Considerando os fatos acima dispostos, pode-se inferir que altas concentrações de compostos fenólicos totais oriundos da erva-mate interferem no processo cervejeiro.

Como observado nos extratos aquosos de erva-mate (Artigo 1) e em todos os tratamentos de cerveja elaborados (Artigo 2), observou-se que quanto maior a concentração de erva-mate adicionada maior foram os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, assim como notou-se um aumento da capacidade antioxidante pelos métodos analisados. Entretanto, quando comparada com uma formulação de cerveja controle, sem adição de erva-mate, as menores concentrações de erva-mate, 5 e 10 g EM L⁻¹, contribuíram com aumento dos teores de compostos fenólicos de 114,9 e 248,9% nos tratamentos T1C1 e T1C2, respectivamente; 112,8 e 219,1% nos tratamentos T2C1 e T2C2, respectivamente; e 93,6 e 208,5% nos tratamentos T3C1 e T3C2, respectivamente (Artigo 2). Apesar de baixas as concentrações de erva-mate, as proporções tornam-se relevantes para a aplicação em cervejas, visto que concentrações mais elevadas interferem sobre o processo cervejeiro. Portanto, concentrações de 5 e 10 g EM L⁻¹ foram ideais para a aplicação das mesmas em análises sensoriais estudadas no Artigo 3. Rio, (2013) observou acréscimo de 6,4% nos níveis de polifenóis em cerveja com adição de gengibre e hortelã, sugerindo que a presença destas substâncias contribuíram para o aumento da capacidade antioxidante da bebida.

Para definir tecnologicamente o melhor momento de inserção da erva-mate durante o processamento da cerveja observou-se que, as maiores concentrações de erva-mate quando adicionadas no início da etapa de fervura do mosto cervejeiro (Tratamento 1), resultaram em maiores teores de compostos bioativos, além da manutenção deles durante o armazenamento das bebidas alcoólicas. A adição de 5, 10, 15 e 20 g de folhas de EM L⁻¹ de cerveja, nos cinco minutos finais de fervura do mosto cervejeiro (Tratamento 2), contribuíram para a manutenção destes compostos no decorrer da vida de prateleira das bebidas. Porém, quando aplicado na maturação (Tratamento 3), extraem em menor proporção, pois não há energia de ativação da fervura, apenas do meio alcoólico das bebidas. No entanto, o presente estudo não pode discriminar a composição extraída em cada uma das etapas, portanto são necessários estudos mais aprofundados para elucidar a estrutura destes compostos.

Com o armazenamento das bebidas por 180 dias observou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) da capacidade antioxidante na cerveja controle e nos tratamentos estudados, para todas

as concentrações de erva-mate adicionadas, quando analisadas pelo método do radical ABTS^{•+}. Pelos métodos de DPPH e FRAP, os resultados demonstram que um maior tempo de fervura da erva-mate, juntamente com o lúpulo de amargor, acarreta em maiores valores de capacidade antioxidante no decorrer do armazenamento das cervejas (Artigo 2).

A cerveja preserva suas características antioxidantes quando consumida nos primeiros quinze dias de produção, com o aumento da vida de prateleira, a bebida vai perdendo suas características antioxidantes e compostos fenólicos (DRAGONE; ALMEIDA E SILVA, 2010). Entretanto, neste estudo observou-se que pelo período de 180 dias, normalmente utilizado na vida de prateleira de cervejas comerciais, as características antioxidantes das bebidas alcoólicas foram mantidas, pelos métodos de DPPH e FRAP (Artigo 2). Deste modo, evidenciase que durante o armazenamento ocorrem interações de compostos fenólicos, acarretando no aumento da capacidade antioxidante. Porém, o armazenamento por períodos mais longos necessitam de estudos para avaliar a capacidade antioxidante e sua composição.

A adição de erva-mate na etapa de fervura do mosto cervejeiro, juntamente com os lúpulos de amargor (Tratamento 1) e aroma (Tratamento 2), não interferiu nos compostos amargos do lúpulo. Quando adicionada na maturação das bebidas alcoólicas (Tratamento 3), os teores de amargor reduziram significativamente, indicando que algum componente da erva-mate tenha interagido com as resinas amargas do lúpulo, já extraídas anteriormente na mosturação (Artigo 2). Porém, na análise sensorial, os julgadores não foram capazes de diferenciar o amargor nas diferentes formulações de cerveja (Artigo 3). Possivelmente, o amargor presente na erva-mate, não detectado pela técnica utilizada, tenha mascarado a falta de amargor oriundo dos iso- α -ácidos presentes no lúpulo, indicando que a erva-mate também pode contribuir sensorialmente para o amargor das bebidas, além do frescor relatado pelos julgadores.

Observamos que as maiores concentrações de erva-mate estudadas (15 e 20 g EM L⁻¹) foram responsáveis pelos maiores teores de compostos bioativos (Artigo 2/Tabelas 2 e 3). Entretanto, na análise sensorial (Artigo 3) observou-se que os tratamentos avaliados no teste afetivo de aceitação (T1C1, T2C2 e T3C1) apresentaram acréscimos nos teores de compostos fenólicos de 114,9, 219,1 e 93,6%, respectivamente, quando comparados com a formulação de cerveja controle (Artigo 2/Tabela 2). Sensorialmente a adição de erva-mate nestes tratamentos não interferiu nos atributos de aroma, amargor e aceitação global das cervejas (Artigo 3). Desta forma, a adição de erva-mate além de contribuir com compostos bioativos na cerveja, não descaracterizou o produto final em relação a estes atributos.

A inclusão de erva-mate na formulação de cervejas, no início e no final da etapa de fervura do mosto cervejeiro e na maturação das bebidas, em pequenas concentrações (5 e 10 g EM L⁻¹), contribuiu sensorialmente com a coloração e o sabor das bebidas alcoólicas, diferenciando positivamente o produto final (Artigo 3).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os diferentes tipos de ervas-mate comerciais para chimarrão, analisados à partir da elaboração de extratos aquosos, aplicando-se diferentes rampas de temperaturas e concentrações de erva-mate, demonstram ser importante fonte de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, assim como possuem elevada capacidade antioxidante, proporcionais a concentração de erva-mate.

As temperaturas de 73 e 100 °C são as mais indicadas para inserção de erva-mate na cerveja, pois em menor tempo conseguiram extrair quantidade semelhante de compostos fenólicos quando comparadas com rampas que utilizam menores temperaturas por um maior período.

Os extratos aquosos elaborados com a erva-mate composta por 100% de folhas de *Ilex paraguariensis*, apresentam melhor comportamento fenólico e antioxidante nas temperaturas utilizadas na etapa de fervura do mosto cervejeiro, indicando a possibilidade desta matéria-prima ser empregada juntamente com os lúpulos de amargor e aroma das cervejas, contribuindo com os teores de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, assim como com a cor, o aroma, o sabor e o amargor das bebidas alcoólicas.

A elaboração de cervejas com adição de baixas concentrações de erva-mate, tipo chimarrão composta por 100% de folhas, no início e no final da etapa da fervura do mosto cervejeiro e na maturação das cervejas contribuem significativamente para a elaboração de bebidas alcoólicas com teores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais superiores e elevada capacidade antioxidante, sem interferir no processo cervejeiro. As cervejas permanecem estáveis durante o armazenamento por 180 dias.

As menores concentrações de erva-mate, adicionadas nas cervejas na etapa de fervura, contribuem para um aumento na coloração das bebidas. Quando adicionada na maturação, a erva-mate foi capaz de aumentar a cor conforme aumentou sua concentração. As unidades de amargor das bebidas alcoólicas apresentam valores inferiores quando a erva-mate é adicionada na maturação das cervejas.

Os resultados obtidos na análise sensorial das cervejas formuladas com 5 g EM L⁻¹, adicionadas junto com o lúpulo de amargor e na maturação das cervejas, e com 10 g EM L⁻¹ quando adicionada com o lúpulo de aroma, indicam ser um produto diferenciado em relação a coloração e o sabor, sem interferir no aroma, no amargor e na aceitação global das bebidas.

Desta forma, a elaboração de cervejas com adição de erva-mate durante o seu processamento, demonstra o potencial fenólico e antioxidante desta matéria-prima para a

elaboração de novos produtos, constituindo uma proposta inovadora para indústria de bebidas alcoólicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUARONE, E.; ALMEIDA LIMA, U.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983. 227 p.

ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 121-128, 2003.

ARRUDA, I. N. Q.; JUNIOR, V. A. P.; GOULART, G. A. S. Produção de cerveja com adição de polpa de murici (*Byrsonima ssp.*). **Interdisciplinar: Revista Eletrônica da UNIVAR**, v. 2, n. 10, p. 129-136, 2013.

BASTOS, D.H.M.; TORRES, E.A.F.S. Maté (*Ilex paraguariensis*) beverages and public health. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v.26, p. 77-89, 2003.

BASTOS, D. H. M. et al. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerbá maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 399-404, 2006.

BASTOS, D. H. et al. Phenolics antioxidants identified by EST-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 423-432, 2007.

BATHKE, L. D.; DRESCH, M. R.; SOUZA, C. F. V. Elaboração e avaliação de alguns aspectos da qualidade de cerveja isenta de glúten. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 11-19, 2013.

BATISTA, R. A.; SILVA, J. B. A. Evaluation of the proportion malt: “pinhão” (*Araucariaangustifolia*): Effect on acceptance in sensory analysis. **European International Journal of Science and Technology**, v. 4, n.3, p. 150-156, 2015.

BERTÉ, K. A. S. et al. Desenvolvimento de gelatina funcional de erva-mate. **Ciência Rural**, v. 41, n. 2, p. 354-360, 2011.

BIZZOTTO, C. S. et al. Quantification of phenolic compounds by capillary zone electrophoresis in extracts of four commercial types of mate herb before and after acid hydrolysis. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 763-768, 2012.

BRASIL. Decreto n. 6.871 de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 jun. 2009.

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº. 277, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis” **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 22 set. 2005.

- BRIGGS, D. E. **Malts and malting**. London: Blackie Academic and Professional; Gaithersburg:Aspen, 1998. 796p.
- BURNS, J. et. al. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n. 12, p. 5797-5808, 2001.
- BRUNELLI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19-27, 2014.
- CALLEMIEN, D.; COLLIN, S. Structure, organoleptic properties, quantification methods and stability of phenolic compounds in beer: a review. **Food Reviews International**, Philadelphia, v. 26, n. 1, p. 1-84, 2009.
- CAMPOS, R. M. L. et al. Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1159-1167, 2007.
- CARDOZO Jr, E. L. et al. Methlxanthines and fenolic compounds contentes in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progênes grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 7, p. 553-558, 2007.
- CARVALHO, G. B. et al. Banana as adjunct in beer production: applicability and performance of fermentative parameters. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 155, n. 1, p. 53-62, 2009.
- CESLOVÁ, L. et al. Characterization of prenylflavonoids and hop bitter acids in various classes of Czech beers and hop extracts using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal Chromatography A**, v. 1216, n. 43, p. 7249-7257, 2009.
- CHIESA, L.; SCHLABITZ, C.; SOUZA, C. F. V. Efeito da adição de erva-mate nas características sensoriais e físico-químicas de barras de cereais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 105-110, 2012.
- CURI, R. A. et al. Produção de cerveja utilizando cevada e maltose de milho como adjunto de malte: análises físico-química, sensorial e isotópica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, n. 4, p. 279-287, 2008.
- CURI, R. A.; VENTURINI FILHO, W. G.; NOJIMOTO, T. Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte: análises físico-química e sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 2, p. 106-112, 2009.
- DANIEL, O. **Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial**. 1. ed. Dourados: Editora UFGD, 2009. v. 1. 288p.
- D'AVILA, R.F. et al. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60-68, 2012.

- DENK, V. et al. **European brewery convention**: manual of good practice, wort boiling and clarification. Nurenberg: Fachverlag Hans Carl, 2000. p. 176.
- DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G (Org.). **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Edgard Blücher, 2010. Cap. 2, p. 15-50.
- ESMELINDRO, M. C. et al. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 193-204, 2002.
- ESTRUCH, R. et al. Bases científicas de los efectos beneficiosos del consumo moderado de cerveza em el sistema cardiovascular. **Cerveza y Salud**, n. 22, p. 1-64, 2015.
- FAION, A. M. et al. Influence of the addition of natural antioxidant from mate leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hill) on the chemical, microbiological and sensory characteristics of diferente formulations of Prato cheese. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1516-1524, 2015.
- FANTOZZI, P. et al. *In vitro* antioxidant capacity from wort to beer. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 31, p. 221-227, 1998.
- FILIP, R. et al. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p.1437-1446, 2000.
- FILIP, R. et al. Phenolic compounds in seven south american *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p.774-778, 2001.
- FREITAS, G. L. et al. Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH*. **Alimentos e Nutrição**, v.17, n.3, p.303-307, jul./set. 2006.
- GERHAUSER, C. Beer constituents as potential chemopreventive agents. **European Journal of Cancer**, v. 41, n. 13, p. 1941-1954, 2005.
- GONZÁLEZ SAN JOSÉ, M. L.; MUÑIZ RODRÍGUEZ, P.; VALLS BELLÉS, V. Actividad antioxidante de la cerveza: estúdios in vitro e in vivo. **Cerveza y Salud**, n.8, p. 1-57, 2001.
- HECK, C. I.; MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, p. 138-151, 2007
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=1613&z=p&o=29>>. Acesso em: 20 dez. 2015a.
- IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura**. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=289&z=p&o=30>>. Acesso em: 20 dez. 2015b.

INYM. INSTITUTO NACIONAL DE LA YERBA MATE. Posadas, 2015. **Informe del sector yerbatero**. Disponível em: <<http://www.inym.org.ar/>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

ISOLABELLA, S. et al. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 695-699, 2010.

KEUKELEIRE, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, v.23, n.1, p. 108-112, 2000.

KIRIN BEER UNIVERSITY. **Global Beer Consumption**.

Disponível em: <<http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/index.html>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. Berlim: VLB, 1997. p. 433-435.

LUGASI, A. Polyphenol content and antioxidante properties of beer. **Acta Alimentaria**, v. 32, n. 2, p. 181-192, 2003.

MACHADO, C. C. B. et al. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 513-518, 2007.

MAG. MINISTERIO DE AGRICULTURA E GANADERÍA. **Zonificacion agroecologica de rubros agropecuarios del Paraguai**. Asunción, 2014. Disponível em:

<<http://www.mag.gov.py/dgp/ZONIFICACION%20AGROECOLOGICA%20ZAFRA%202012%202013.pdf>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Notícias**. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/comunicacao/noticias/2013/12/mais-de-mil-tipos-de- cervejas-estao-registradas-no-brasil>>. Acessado em: 10 jan. 2016.

MEINHART, A. D. et al. Methylxanthines and Phenolics Content Extracted during the Consumption of Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2188-2193, 2010.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MELLO, A. C. B. et al. Bebida gaseificada de erva-mate. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 354-360, 2009.

OETTERER, M.; ALCARDE, A. R. Tecnologia da fabricação de cerveja. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F (Org.). **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006. Cap. 2, p. 51-98.

PRECI, D. et al. Desenvolvimento de iogurte light com extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) e adição de probióticos. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 27-38, 2011.

REBELLO, F. F. P. Produção de cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, p. 145-155, dez. 2009.

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**. 2013. 69f. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Rio de Janeiro, 2013.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A química da cerveja. **Química Nova na Escola**, v. 37, n. 2, p. 98-105, 2015.

SEVERO Jr, J. B. et al. Estudo do efeito da levedura sobre a qualidade da cerveja de milho (*Zea Mays*). **Brazilian Journal of Food Technology**, 5° SIPAL, 2005.

SICOBÉ. Sistema de Controle de Produção de Bebidas. **Produção cervejas e refrigerantes – mensal**. Disponível em:

<<http://www.receita.fazenda.gov.br/PessoaJuridica/Bebidas/SistContrProdSicobe.htm>>.

Acesso em: 20 dez. 2015.

SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 491-498, out./dez. 2008.

SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W. G. Utilização de extratos de malte na fabricação de cerveja: avaliação físico-química e sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 145-153, 2004.

STEWART, G. G. A brewer's delight. **Chemical Industry**, v.6, n.11, p. 706-709, 2000.

STREIT, N. M. et al. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 560-564, 2007.

VALLS BELLÉS, V. et al. Biodisponibilidad de los flavonoides de la cerveza. Efecto antioxidante “in vivo”. **Cerveza y Salud**, n. 14, p. 1-107, 2005.

VENTURINI FILHO, W. G; CEREDA, M. P. Hidrolisado de fécula de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação química e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 2, p. 156-161, 1998.

ZHAO, H. et al. Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1150–1158, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL UTILIZADA PARA O TESTE AFETIVO DE PREFERÊNCIA POR COMPARAÇÃO PAREADA.

Iniciais do seu nome: _____ Sexo: () M () F Data: ____/____/____

Idade: () 18-25 () 26-35 () 36-45 () 46-55 () mais de 55 anos

Você está recebendo duas amostras codificadas de cerveja com adição de erva-mate. Por favor, prove-as da esquerda para a direita e faça um círculo na amostra de sua preferência.

975 487

Comentários: _____

APÊNDICE B – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL UTILIZADA PARA OS TESTES DE ACEITAÇÃO E INTENÇÃO DE COMPRA.

Iniciais do seu nome: _____ Sexo: () M () F Data: ____/____/____

Idade: () 18-25 () 26-35 () 36-45 () 46-55 () mais de 55 anos

Amostra: **442**

Você está recebendo uma amostra codificada de cerveja com adição de erva-mate. Por favor, prove-a e avalie o quanto você gostou ou desgostou da amostra utilizando a escala abaixo para marcar a resposta que melhor reflita seu julgamento sobre cada atributo do produto.

	Cor	Aroma	Sabor	Amargor	Aceitação global*
Gostei muitíssimo					
Gostei muito					
Gostei					
Indiferente					
Desgostei					
Desgostei muito					
Desgostei muitíssimo					

*Aceitação global: corresponde a quanto você gostou ou desgostou da amostra de um modo geral.

Em relação a sua intenção de compra:

- () Certamente eu compraria
- () Provavelmente eu compraria
- () Talvez eu compraria/Talvez eu não compraria
- () Provavelmente eu não compraria
- () Certamente eu não compraria

Comentários: _____