



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANAYANA ZAGO DANGUI

**INOVAÇÃO EM CERVEJA ARTESANAL ADICIONADA COM
EXTRATO DE BIOATIVOS FENÓLICOS DE *AGARICUS BLAZEI*
*MURRILL***

Londrina
2022

ANAYANA ZAGO DANGUI

**INOVAÇÃO EM CERVEJA ARTESANAL ADICIONADA COM
EXTRATO DE BIOATIVOS FENÓLICOS DE *AGARICUS BLAZEI*
*MURRILL***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Londrina como requisito necessário à obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elisa Yoko Hirooka
Co-orientador: Prof. Dr. Ricardo Aparecido Pereira

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

D182i Danguí, Anayana Zago.
Inovação em cerveja artesanal adicionada com extrato de bioativos fenólicos de *Agaricus blazei* Murril / Anayana Zago Danguí. - Londrina, 2022.
77 f. : il.

Orientador: Elisa Yoko Hirooka.
Coorientador: Ricardo Aparecido Pereira.
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2022.
Inclui bibliografia.

1. Inovação em cerveja - Tese. 2. Cogumelo - Tese. 3. Compostos fenólicos - Tese. I. Hirooka, Elisa Yoko . II. Pereira, Ricardo Aparecido . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. IV. Título.

CDU 615

ANAYANA ZAGO DANGUI

**INOVAÇÃO EM CERVEJA ARTESANAL ADICIONADA COM
EXTRATO DE BIOATIVOS FENÓLICOS DE *AGARICUS BLAZEI*
*MURRILL***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Londrina como requisito necessário à obtenção do título de mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elisa Yoko Hirooka
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Nilton Syogo Arakawa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^ª. Dr^ª. Elisabete Hiromi Hashimoto
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Londrina, 7 de abril de 2022.

*Aos meus pais, Nelsi e Luiz, e ao
meu irmão Thiago, pelo apoio,
incentivo e amor.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elisa Yoko Hirooka, que foi além de suas atribuições como orientadora e me manteve amparada da melhor maneira possível durante a estadia em Londrina. Obrigada por ter aceitado esse desafio, pelo carinho, paciência e cuidado que teve comigo.

Ao Prof. Dr. Ricardo Aparecido Pereira, por ter me inserido e incentivado no mundo da pesquisa, repassando infinitos ensinamentos e contribuições ao longo dos 5 anos do grupo de pesquisa.

À banca de qualificação e defesa, Prof. Nilton e Profa. Elisabete, pela disponibilidade em avaliar e agregar seus conhecimentos nessa pesquisa.

Às integrantes do grupo de pesquisa C.E.V.A.D.A do IFPR, em especial, Ana Karolina Santos Goes, Aline Brasil de Jesus, Aline Tiecher Marin, Fernanda Fiorini e Renata Corassa, pela contribuição no desenvolvimento desta pesquisa e pela amizade sincera nos momentos bons e ruins.

À Prof. Ma. Kely Pricila de Lima, pela amizade, apoio e incentivo nos momentos mais difíceis.

Aos meus queridos amigos da UEL, pela companhia em momentos de estudo e descontração. A amizade de vocês foi primordial para a conclusão dessa etapa.

Ao IFPR e á UEL por oferecerem as condições necessárias para a concretização desse mestrado.

À CAPES, pelo fornecimento da bolsa de auxílio.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Ciência Farmacêuticas e da Pós-graduação em Ciência de Alimentos pelos ensinamentos adquiridos.

Aos funcionários do IFPR, que não mediram esforços para me auxiliar no que fosse necessário.

Ao meu namorado Allyson Simão pela motivação, companheirismo e apoio em todos os momentos.

À toda a minha família, em especial meus pais, Nelsi e Luiz, e meu irmão Thiago. Sou eternamente grata pelo apoio emocional e financeiro que recebi de vocês diante das dificuldades do mestrado. Obrigada por todo o amor e confiança.

À todos aqueles que embora não citados participaram de uma alguma forma na realização desse trabalho.

DANGUI, Anayana Zago. **Inovação em cerveja artesanal adicionada com extrato de bioativos fenólicos de *Agaricus blazei* Murril**. 2022. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

RESUMO

A crescente mudança no estilo de vida gerou aumento na incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), sendo o portador orientado a modificar hábitos com ênfase a alimentos *in natura* contendo bioativos preventivos. A indústria agroalimentar investe em novos produtos funcionais, em atendimento à expectativa organoléptica, aliado ao benefício à saúde. Considerando que a cerveja seja uma bebida de preferência mundial contendo compostos fenólicos entre inúmeros componentes, o trabalho objetivou apresentar uma inovação em produto artesanal como alternativa funcional, incorporando extratos de *Agaricus blazei* Murril (AbM) com potencial ação anti-oxidante, antiinflamatória, anticancerígena, antiviral e imunomoduladora. Para isso, foram produzidos 2 extratos de AbM, aquoso e hidroalcoólico, para posterior adição nas cervejas, totalizando 3 cervejas, sendo: cerveja sem extrato, cerveja com extrato aquoso de AbM e cerveja com extrato hidroalcoólico de AbM. As análises das cervejas produzidas consistiram de análises: físico-químicas – pH, densidade, acidez total, extrato seco, *real degree of fermentation* (RDF), calorias e teor alcoólico; Os bioativos fenólicos foram analisados através do método espectrofotométrico com o reagente de folin-ciocalteau e cromatografia líquida acoplada ao espectro de massas (Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High-resolution mass spectrometry - UHPLC-HRMS/MS). As cervejas em estudo apresentaram-se dentro dos padrões esperados da literatura e da legislação para cervejas artesanais nas análises físico químicas. Todavia, a produção em escala piloto resultou em algumas diferenças entre as formulações, pois a cerveja adicionada com extrato aquoso apresentou menor RDF, teor alcoólico e quantidade de calorias e maior densidade ($p < 0,05$) que as demais. Enquanto a cerveja com o extrato hidroalcoólico apresentou maior pH e maior teor alcoólico. Em relação aos fenólicos, essencialmente quatro foram identificados em destaque: ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, ácido para-cumárico e ácido gálico. A cerveja produzida com extrato hidroalcoólico demonstrou maior teor e maior diversidade de compostos fenólicos, sendo 298,43 mg EAG/L, seguida da cerveja com extrato aquoso (282,83 mg EAG/L) e por fim a cerveja sem extrato (268,81 mg EAG/L). Os extratos também apresentaram diferenças no teor de fenólicos, sendo de 1250,583 mg EAG/L para o extrato hidroalcoólico e 1069,388 mg EAG/L para o extrato aquoso. Os resultados demonstram que houve incorporação de compostos fenólicos com a adição dos extratos nas cervejas, revelando potencial da bebida como um alimento funcional com possível ação coadjuvante no tratamento de DCNT.

Palavras-chave: inovação em cerveja; cogumelo; compostos fenólicos.

DANGUI, Anayana Zago Dangui. **Innovation in craft beer combined with phenolic bioactive extract of *Agaricus blazei* Murril**. 2022. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

ABSTRACT

The growing change in lifestyle has generated an increase in the incidence of chronic non-communicable diseases (NCDs), and patients are advised to change habits, with emphasis on in natura foods containing preventive bioactives. The agri-food industry invests in new functional products, meeting organoleptic expectations, allied to health benefits. Considering that beer is a beverage of preference worldwide containing phenolic compounds among numerous components, the work contributes with innovation in artisanal product as a new functional alternative, incorporating extracts of *Agaricus blazei* Murril with potential anti-oxidant, anti-inflammatory, anticancer, antiviral and immunomodulatory action. For this, 2 extracts of AbM, aqueous and hydroalcoholic, were produced for later addition in beers, totaling 3 beers, namely: beer without extract, beer with aqueous extract of AbM and beer with hydroalcoholic extract of AbM. The analyzes on the beers produced consisted of physical-chemistry – pH, density, total acidity, dry extract, real degree of fermentation (RDF), calories and alcohol content; the phenolic bioactives were analyzed through the spectrophotometric method with folin-ciocalteau reagent and liquid chromatography coupled to the mass spectrum (Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High-resolution mass spectrometry - UHPLC-HRMS/MS). The beers under study were within the expected standards for craft beers in the physical-chemical analyses, according to legislation and literature. However, the pilot scale production resulted in some differences between them, as the beer added with aqueous extract had lower RDF, alcohol content and amount of calories and higher density ($p < 0.05$) than the others. While the beer with the hydroalcoholic extract showed higher pH and higher alcohol content. Regarding phenolics, essentially four were highlighted: benzoic acid, hydroxybenzoic acid, para-coumaric acid and gallic acid. The beer produced with hydroalcoholic extract showed higher content and greater diversity of phenolic compounds, being 298.43 mg EAG/L, followed by beer with aqueous extract (282.83 mg EAG/L) and finally beer without extract (268, 81 mg EAG/L). The extracts also showed differences in phenolic content, being 1250.583 mg EAG/L for the hydroalcoholic extract and 1069.388 mg EAG/L for the aqueous extract. The results demonstrate that there was incorporation of phenolic compounds with the addition of extracts in beers, revealing great potential of the drink as a functional food with possible adjuvant action in the treatment of NCCD.

Key words: innovation in beer; mushroom; phenolic compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação dos CF.....	16
Figura 2 - Estrutura básica dos flavonóides.....	17
Figura 3 - Estrutura básica dos ácidos fenólicos.	18
Figura 4 - Basidiocarpos de AbM	24
Figura 5 - Basidiocarpos imaturo (YB) e maduro (MB) de AbM.....	25
Figura 6 - Fluxograma experimental geral.....	28
Figura 7 - Higienização e separação dos cogumelos na Blazei Murill.....	29
Figura 8 - Amostras de AbM recebidas.	30
Figura 9 - Cogumelos recebidos e após trituração	30
Figura 10 - A esquerda o extrato aquoso e a direita o extrato hidroalcolico.	31
Figura 11 - Fluxograma do processo de produção das cervejas.....	33
Figura 12 - Painel Semi-automatizada de Brassagem BEERMAX – EVOLUTEC®.	34
Figura 13 - Fermentador lacrado	35
Figura 14 - Fermentador na etapa de fermentação em geladeira.	36
Figura 15 - Garrafas lacradas após envase.....	37
Figura 16 - Amostras de cerveja em sextuplicata.....	38
Figura 17 - Fórmula estrutural do ácido benzóico	51
Figura 18 - Fórmula estrutural do ácido hidróxibenzóico	51
Figura 19 - Fórmula estrutural do ácido para-cumárico	52
Figura 20 - Fórmula estrutural do ácido gálico	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos fenólicos flavonóides	17
Tabela 2 - Compostos fenólicos não-flavonóides	18
Tabela 3 - Materiais utilizados para uma brasagem de 30 litros	32
Tabela 4 - Análises físico-químicas das amostras de cerveja	43
Tabela 5 - Análises físico-químicas das amostras de cerveja realizadas com o equipamento Alcolyzer Beer.....	45
Tabela 6 - Resultados da análise de quantificação de compostos fenólicos nas amostras.....	48
Tabela 7 - Compostos fenólicos identificados nas amostras	50

LISTA DE ABREVIATURAS, SIMBOLOS E SIGLAS

AbM	Agaricus blazei Murril
ANOVA	Análise de Variância
AVE	Acidente Vascular Encefálico
CF	Compostos Fenólicos
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM	Diabetes Mellitus
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HRMS/MS	High-resolution mass spectrometry
IAM	Infarto Agúdo do Miocárdio
IC	Insuficiência Cardíaca
m/v	Massa por volume m/z Massa por carga elétrica nm Nanômetro
RDF	real degree of fermentation
SNK	Student-Newman-Keuls
SP	São Paulo
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UHPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
UV-VIS	Ultravioleta-visível
v/v	Volume por volume
°Brix	Grau Brix

APÊNDICE

Anexo 1 - Sobreposição dos cromatogramas das amostras.	63
Anexo 2 - Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico.....	64
Anexo 3 - Composto 2 detectado no EH.	65
Anexo 4 - Composto 4 detectado no EH	65
Anexo 5 - Composto 3 detectado no EH	66
Anexo 6 - Composto 1 detectado no EH	66
Anexo 7 - Cromatograma do Extrato Aquoso.....	67
Anexo 8 - Composto 1 detectado no EA	68
Anexo 9 - Composto 3 detectado no EA	68
Anexo 10 - Composto 2 detectado no EA	69
Anexo 11 - Cromatograma da cerveja sem extrato.	70
Anexo 12 - Composto 1 detectado na C.....	71
Anexo 13 - Cromatograma da cerveja com o extrato hidroalcoólico	72
Anexo 14 - Composto 3 detectado no CEH.....	73
Anexo 15 - Composto 1 detectado no CEH.....	73
Anexo 16 - Composto 2 detectado no CEH.....	74
Anexo 17 - Cromatograma da cerveja com o extrato aquoso	75
Anexo 18 - Composto 2 detectado no CEA.....	76
Anexo 19 - Composto 1 detectado no CEA.....	76

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	COMPOSTOS FENÓLICOS	16
3.2	DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS	19
3.3	ALIMENTOS FUNCIONAIS	19
3.4	CERVEJA.....	20
3.4.1	Matéria Prima e Benefícios.....	22
3.4.2	Álcool.....	23
3.5	<i>AGARICUS BLAZEI MURRIL</i>	24
3.5.1	Matéria Prima e Benefícios.....	25
4	METODOLOGIA	28
4.1	FLUXOGRAMA GERAL	28
4.1	OBTENÇÃO DO COGUMELO	28
4.2	PREPARO DOS EXTRATOS.....	30
4.3	PRODUÇÃO DA CERVEJA	32
4.3.1	Matéria Prima	32
4.3.2	Processo Cervejeiro	32
4.3.2.1	Moagem.....	34
4.3.2.2	Mosturação.....	34
4.3.2.3	Fervura, whirlpool e resfriamento	35
4.3.2.4	Preparo da levedura	35
4.3.2.5	Fermentação	36
4.3.2.6	Maturação e adição dos extratos.....	36
4.3.2.7	Priming, envase e pasteurização.....	37
4.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	38
4.3.1	pH.....	38

4.3.2	Acidez Total.....	39
4.3.3	Extrato Seco	39
4.3.4	Alcolyzer Beer	40
4.5	ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS	40
4.5.1	Folin-Ciocalteau.....	40
4.5.2	UHPLC-HRMS/MS	41
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	43
5.1.1	Acidez Total, Extrato Seco e pH.....	43
5.1.2	Alcolyzer Beer	45
5.2	ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS	47
5.2.1	Folin-Ciocalteau.....	47
5.2.2	UHPLC-HRMS/MS	50
	CONCLUSÕES	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	APÊNDICES.....	63

1 INTRODUÇÃO

A mudança no estilo de vida populacional, agravada também pela pandemia de COVID-19, gerou um aumento na incidência de doenças crônicas não transmissíveis – DCNT (MALTA *et al.*, 2021). As DCNT englobam desde doenças cardiovasculares, respiratórias, câncer a diabetes, com elevada taxa de morbimortalidade. Estabelecendo-se entre problema de saúde global, DCNT causou 71% do total de óbitos registrados no mundo em 2019, enquanto que no Brasil a taxa de 54,7% correspondeu a mais da metade do total de mortes (BRASIL, 2021).

O consumo de alimentos processados, aliado ao sedentarismo são os principais fatores de risco controlável de DCNT, sendo a intervenção preventiva essencial à qualidade de vida ao portador (SANTOS, SILVA, SOARES, 2021; BARROS *et al.*, 2021). Adaptando-se à realidade, agroindustrias têm investido no desenvolvimento de produtos funcionais, ou incorporar compostos bioativos em produtos amplamente consumidos, em busca de atender expectativa organoléptica, aliado a benefícios à saúde (MACHADO *et al.*, 2021).

Embora o consumo de álcool seja vastamente discutido sobre a sua relação com saúde/doença, pois em excesso a ingestão pode acarretar no aparecimento e agravamento de diversas doenças, um consumo diário e em baixas doses tem sido correlacionado com efeitos benéficos ao organismo, principalmente cardioprotetor e atividade antitrombótica (MORAES; LOCATELLI, 2010; ANDRADE; OLIVEIRA, 2009).

Neste sentido, a cerveja encontra-se como um produto de preferência do consumidor, estando entre as bebidas mais consumidas no mundo inclusive no Brasil, onde associa-se a aspectos culturais e, ao prazer sensorial refrescante e agradável a diversos públicos (SILVA; LEITE; DE PAULA, 2016). Dentre os diversos elementos naturais na composição, destacam-se os compostos fenólicos pela ação antioxidante, além de contribuírem na característica sensorial da cerveja, a exemplo de ácidos fenólicos como ácido caféico e ferúlico e, as catequinas (SILVA; DIAS; KOBLITZ, 2021).

Os compostos fenólicos estão presentes em alimentos de origem vegetal como frutas, verduras, especiarias e cogumelos. Diversos estudos relatam efeitos na saúde e prevenção de doenças, com enfoque na diminuição do risco de

DCNT e doenças degenerativas através do consumo diário dessas substâncias (FISCHMANN *et al.* 2020).

O *Agaricus blazei* Murril (AbM) é um fungo basidiomiceto marrom, comestível e nativo do Brasil. Estudos associam os princípios ativos do cogumelo a propriedade antiinflamatória, anticancerígena, antioxidante, antiviral, antitumoral, imunomoduladora entre outras (TAOFIQ *et al.*, 2019). O fator benéfico a saúde têm gerado um aumento no consumo de AbM seja na forma de chá, nutracêutico, ou cosmeceutico (WANG; FU; HAN, 2013).

Baseado nestes fatos, o estudo teve como objetivo produzir uma cerveja artesanal com adição de extratos de *Agaricus blazei* Murril, a fim de se obter um alimento funcional com compostos fenólicos e possível ação coadjuvante no tratamento de doenças crônicas não transmissíveis – DCNT.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver cerveja artesanal com adição de extrato de *Agaricus blazei* Murrill como alternativa de alimento funcional.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a conformidade das cervejas artesanais com relação aos parâmetros físico-químicos;
- Verificar se a incorporação dos extratos afeta os parâmetros físico-químicos;
- Verificar se a incorporação dos extratos foi significativa para adição de compostos fenólicos na cerveja em relação à concentração e também em variedade.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

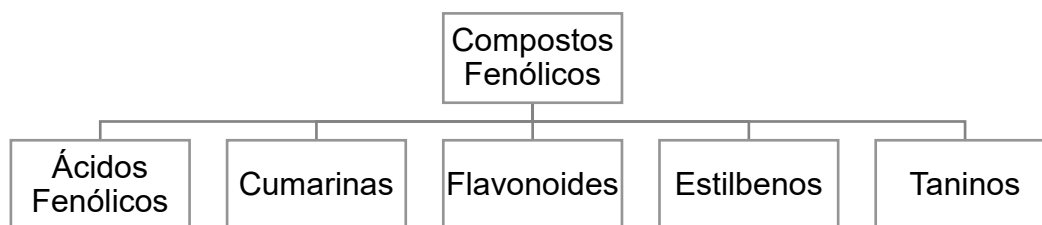
3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos (CF) são um complexo e grande grupo de antioxidantes provenientes do meio vegetal. Esses compostos são produtos do metabolismo secundário das plantas, produzidos através de reações de defesa contra ferimentos, estresse e radiações UV, sendo de grande importância para o seu crescimento e reprodução (ANGELO, JORGE, 2007).

Os fenólicos possuem estruturas variáveis, em forma simples ou de polímeros, constituídos por um anel aromático, hidroxilas e seus grupos funcionais. Nas plantas estão presentes em forma livre ou ligados a heterosídios e proteínas (DEGÁSPARI, WASZCZYNSKYJ, 2004; ANGELO, JORGE, 2007).

Os CF podem ser divididos em cinco grupos (figura 1): Flavonóides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos e cumarinas.

Figura 1. Classificação dos CF.



Fonte: Adaptado de LEAL *et al.*, 2017.

Destes grupos, destacam-se os flavonoides e os ácidos fenólicos. Os flavonóides são compostos C6-C3-C6, apresentam como estrutura básica dois anéis aromáticos ligados por uma ponte com três carbonos e um átomo de oxigênio, proveniente da condensação de moléculas da via do chiquimato e acetato, conforme figura 1. Eles dividem-se em seis principais grupos (tabela 1) de acordo com o nível de oxidação e o padrão de substituição do anel central (LIMA, 2013).

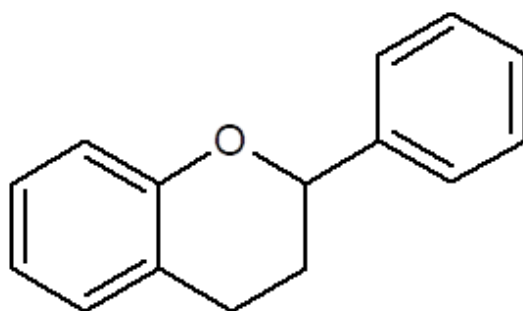


Figura 2. Estrutura básica dos flavonóides.

Fonte: Autora, 2022.

Tabela 1. Compostos fenólicos flavonóides

Compostos Fenólicos flavonóides (Polifenóis)		
Grupo	Estrutura	Compostos
1 - Flavonóis		Quercetina, Campferol Miricetina, Galangina
2 - Flavonas		Apigenina, Crisina, Luteonina
3 - Flavanois		Catequina, Epicatequina, Epigallocatequina
4 - Flavanonas		Eriodictol, Hesperitina, Naringenina
5 - Antocianidinas		Cianidina, Pelargonidina, Delfinidina, Peonidina
6 – Isoflavonoides (Isoflavonas)		Genisteína, Daidzeína, Gliciteína

Fonte: Adaptado de SOUZA (2013).

Os ácidos fenólicos simples mais comuns são, os derivados do ácido benzóico e os derivados do ácido cinâmico (tabela 2). O primeiro apresenta uma estrutura com sete átomos de carbono (C6-C1) e o segundo com nove átomos (C6-C3), conforme figura 3 (LIMA, 2013).

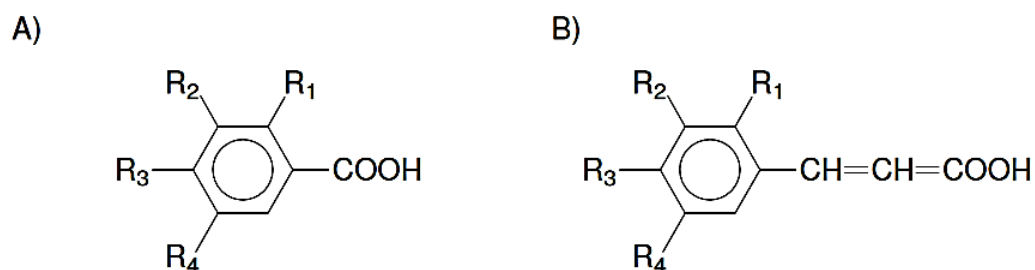
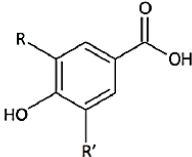
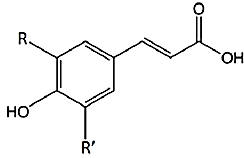


Figura 3. Estrutura básica dos ácidos fenólicos. A) Ácido benzóico e B) Ácido Cinâmico (LIMA, 2013)

Tabela 2. Compostos fenólicos simples

Compostos Fenólicos ácidos ou fenóis simples		
Grupo	Estrutura	Compostos
1 – Ácidos Hidroxibenzoicos		Ácido Gálico, Protocatéquico, Vanílico, Siríngico
2 – Ácidos hidrocinnâmicos		Ácido p-cumárico, Caféico, Ferúlico, Sináptico

Fonte: Adaptado de SOUZA (2013).

Os CF agem como antioxidantes inibindo a ação dos radicais livres e complexando metais. Os radicais livres em excesso estão ligados ao aparecimento de diversas doenças, visto que acometem moléculas como lipídios e proteínas (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

3.2 DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS

Sendo o grupo de doenças de maior magnitude no Brasil, as DCNT abrangem 4 principais processos patológicos sendo, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias, diabetes *mellitus* (DM) tipo 2 e cânceres. As doenças cardiovasculares correspondem principalmente a hipertensão arterial sistêmica (HAS), infarto agudo do miocárdio (IAM), insuficiência cardíaca (IC), acidente vascular encefálico (AVE) e dislipidemias. As doenças respiratórias correspondem a asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), apneia obstrutiva do sono, nódulos pulmonares e tosse crônica. Os mais prevalentes tipos de cânceres, são os que afetam pulmão, próstata, mama, colo de útero e colorretal (BRASIL, 2021; SCHMIDT *et al.*, 2011).

Os principais fatores de risco modificáveis para as DCNT são o tabagismo, sedentarismo, alimentação inadequada e o uso prejudicial de álcool. Os fatores de risco não modificáveis são, idade, sexo e história familiar (DUNCAN *et al.*, 2012).

Quando diagnosticado, o portador de uma DCNT é orientado a modificar seus hábitos, principalmente a diminuir o consumo de álcool, praticar exercícios físicos e iniciar uma dieta balanceada (STIPP *et al.*, 2007). A ingestão de alimentos *in natura* que contenham compostos bioativos como os compostos fenólicos, carotenóides e flavonóides, tendem a trazer benefícios prevenindo o aparecimento de doenças (ROCHA *et al.*, 2021).

3.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A dieta exerce um importante papel na manutenção da saúde do homem, visto que os componentes de um alimento podem interferir de forma benéfica ou maléfica para o organismo (BASTOS; ROGERO; AREAS, 2009).

Alimentos funcionais são aqueles que apresentam, além das suas funções nutricionais básicas, benefícios a saúde do consumidor. São exemplos de alimentos funcionais, os probióticos, laticínios, grãos, chás, café, frutas, verduras e tubérculos (SANTOS *et al.*, 2020).

Componentes como as fibras, proteínas, minerais, vitaminas e bioativos presentes no alimento, interagem com as células presentes no organismo

causando diversos efeitos positivos, como o efeito antioxidante, causando proteção contra o dano oxidativo. Além disso, se consumidos *in natura* apresentam melhor absorção e aproveitamento pelo organismo do que se consumidos encapsulados (ROCHA *et al.*, 2021).

A abordagem alimentar correlacionada a medicação, tem se mostrado vantajosa tanto para o paciente como para o profissional, facilitando a adesão ao tratamento por este ser passível de modificações, conforme a rotina ou preferência do paciente pelo alimento (SANTOS *et al.*, 2020; ROCHA *et al.*, 2021).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda um consumo mínimo de 400g por dia de frutas, verduras e hortaliças. Essa taxa dificilmente é alcançada pela população por suas características socioeconômicas e culturais. Por isso, técnicas de incorporação de compostos bioativos tem crescido entre as indústrias alimentícias, que reconhecem a importância da técnica frente ao reforço no valor nutricional dos alimentos e manutenção da saúde de seus consumidores (MACHADO *et al.*, 2021).

As bebidas são produtos tecnológicos que apresentam maior facilidade de incorporação de nutrientes em comparação com alimentos mais complexos, além de apresentarem maior popularidade, bebidas tendem a ter menos alterações físico-químicas com a incorporação (TOALDO *et al.*, 2013).

3.4 CERVEJA

Derivada do latim *bibere*, que significa beber, a cerveja é uma bebida fermentada, e sua produção é relatada até cerca de 6.000 a 8.000 anos atrás, originada juntamente com a prática de cultivo e domínio de cultivo de cereais pelos povos antigos (DRAGONE; SILVA; SILVA, 2016).

A origem das primeiras cervejas não é totalmente conhecida, mas há relatos da sua utilização com cevada maltada a partir do trigo, denominada Emmer no Antigo Egito, e na Mesopotâmia, onde era utilizada como forma de tratamento de ferimentos e como um antisséptico bucal (BAMFORT; RUSSEL; STEWART, 2009).

Tendo sua produção totalmente caseira, normalmente a responsabilidade da sua fabricação era da mulher, e a bebida servia como complementação alimentar para a família, uma vez que seus componentes eram de baixo custo

se comparados com o vinho. A produção de cerveja em maior escala se deu em mosteiros no século VI, quando a cerveja começou a ser estudada e registrada pelos monges que iniciaram a aprimorar técnicas de conservação (MORADO, 2009).

Na idade média a cerveja era produzida com diferentes ingredientes e em quantidades distintas. Com o aumento da sua produção em grande escala e dificuldade no controle e repetitividade, aprovou-se em 1516 na Alemanha a lei mais antiga do mundo com relação a manipulação de alimentos, a *Reinheitsgebot*, ou lei da pureza, a qual define que a cerveja só deve ser produzida com cevada maltada, água e lúpulo, sendo somente este último, o único ingrediente a ser adicionado para proporcionar amargor a bebida (DRAGONE; SILVA; SILVA, 2016).

Esta lei ainda está em vigor ainda em países como a Grécia e a Alemanha, porém no Brasil é permitido pela legislação vigente a adição de cereais não maltados em sua produção, desde que não se ultrapasse o limite de 45% em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 2009).

No Brasil, o consumo da bebida, deu-se com a chegada e permanência da família real, a qual trouxe consigo a cerveja da Europa e a importava desde então (GARCIA, 2012). Somente em 1853 a primeira cerveja foi fabricada no Brasil, em Petrópolis no Rio de Janeiro, a Bohemia, cerveja que hoje é produzida pela American Beverage Company (Ambev) (RIO, 2013).

Com a globalização do produto e o desenvolvimento tecnológico, criou-se a oportunidade para a indústria cervejeira crescer, surgindo assim as megacervejarias, distribuídas pelo mundo todo e que disseminam diversas marcas de cerveja em outros países (MORADO, 2009).

A partir da década de 80 houve um crescimento acelerado de microcervejarias com produção artesanal da bebida. Esse tipo de estabelecimento não concorre diretamente com as grandes indústrias, mesmo que essas vendam seus produtos a um preço diferenciado (MATOS, 2011).

As pequenas empresas permanecem fortemente no mercado pois seu público consumidor é exigente, ao qual se importam com características como cor, odor, sabor e teor alcoólico do produto. Por isso, as microcervejarias tem foco na qualidade da sua matéria prima e do produto final, adquirindo melhor experiência sensorial (MATOS, 2011).

O mercado cervejeiro no Brasil cresce em ritmo acelerado. Os pesquisadores do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicaram dados no Anuário da Cerveja no Brasil de 2018, apontando que neste ano houve 6.800 registros de cerveja e chope, enquanto o vinho por exemplo obteve aproximadamente 1.800 registros. Além disso, o ano de 2018 obteve um aumento de 270 cervejarias a mais em relação ao ano de 2017, totalizando 889 cervejarias em 12 meses (BRASIL, 2018).

O Brasil está entre os 3 países que mais produzem cerveja no mundo, com 12,4 bilhões de litros anuais e com um consumo de 50 litros per capita/ano (RIO, 2013).

3.4.1 Matéria Prima e Benefícios

A cerveja é produzida utilizando malte de cevada, água, lúpulo e levedura, havendo ainda a possibilidade de se adicionar em certa quantidade, cereais não maltados, como por exemplo o arroz, milho e o trigo. Rica em folatos, íons e vitaminas do complexo B, a cerveja é uma bebida considerada diurética pela sua relação com potássio/sódio (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

A atividade antioxidante da cerveja deve-se a sua concentração de compostos bioativos fenólicos, proveniente do malte (70-80%) e do lúpulo (20-30%). Esses compostos atuam diretamente no sequestro de radicais livres, protegendo as células contra efeitos genotóxicos (ARIMOTO-KOBAYASHI, 2005; SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

A cevada contém proteínas, lipídeos, polissacarídeos e íons, além de monofenóis e polifenóis. A principal classe de compostos fenólicos encontrados no malte são os derivados do ácido hidroxibenzoico (ácido gálico, ácido siríngico e ácido protocatequico) e ácidos hidroxicinâmicos (ácido caféico, ácido para-cumárico e ácido ferúlico) (HORNSEY, 1999).

Dentre os compostos fenólicos existentes no trigo, tem-se principalmente os ácidos fenólicos, como o caféico, salicílico, vanílico, cumárico, siríngico e o ácido ferulico (NACZK; SHAHIDI, 2006).

Com efeito antibiótico e anti-inflamatório, o lúpulo apresenta propriedades medicinais e efeitos bioativos na maioria dos seus compostos. As principais classes encontradas são, flavanonas (isoxanthohumol e prenilnaringenina),

chalconas (xanthohumol) e flavonóis (quercetina e canferol) (GARCIA; GRANDE; GÁNDARA, 2004).

Outras classes de compostos fenólicos como as catequinas, taninos e procianidinas, também podem ser encontrados nos componentes da cerveja, porém em menores concentrações (SIQUEIRA; BOLINI; MACEDO, 2008).

3.4.2 Álcool

O etanol é um produto da fermentação da cerveja, seu teor na bebida depende da quantidade de carboidratos fermentescíveis presentes no mosto e também do tempo de fermentação da bebida (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2010).

O álcool é apontado como causa de aparecimento e agravamento de diversas doenças inclusive as DCNT, porém, estudos revelam que o consumo de etanol em baixas doses pode ser benéfico para a saúde, diminuindo o risco de mortalidade por doenças coronarianas, desenvolvimento de demência e diabetes (REHM; SAMOKHVALOV; SHIELD 2003, ANDRADE; OLIVEIRA, 2009).

O termo “uso moderado” é muito utilizado em recomendações quanto consumo de álcool, porém é um termo amplo e considerado impreciso pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (ANDRADE; OLIVEIRA, 2009).

A maior parte das diretrizes para o consumo de álcool no mundo recomenda não mais do que 1 dose diária para mulheres e 2 doses para homens, com aproximadamente 10g de álcool puro por dose. Segundo os padrões da Organização Mundial da Saúde (OMS) uma lata de 320mL de cerveja corresponde a 1 dose (PAULA, 2021). Além disso, não é recomendada a ingestão de álcool por gestantes, menores de 18 anos e pessoas que apresentam histórico de problemas com bebidas alcoólicas. Pessoas acima de 65 anos não devem consumir mais do que 3 doses por semana, e pacientes em tratamento medicamentoso com fármacos que podem interagir com o álcool não são aconselhadas a fazerem uso (ANDRADE; OLIVEIRA, 2009).

Estudos sugerem que o consumo de álcool em baixas doses está inversamente relacionado ao aparecimento de DCNT. Pessoas que fazem uso moderado de cerveja e vinho apresentaram menor taxa de mortalidade se

comparadas a pessoas que não fazem uso de bebidas ou fazem em demasia. Isso se deve a capacidade antioxidante da bebida, que no plasma, diminui os efeitos negativos do consumo do álcool (BAMFORTH; RUSSEL; STEWART 2009, SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

3.5 *AGARICUS BLAZEI MURRIL*

O cogumelo *Agaricus blazei Murrii* (Figura 4) também denominado de *A. brasiliensis* e *A. subrufescens*, é um cogumelo comestível nativo do Brasil, conhecido como cogumelo do sol, champignon do Brasil, *Himematsutake* no Japão e cogumelo piedade, pela cidade onde foi descoberto, em Piedade - SP na década de 60 (MIRANDA, 2015).

Pelas condições climáticas favoráveis, o Brasil é o maior produtor de cogumelo do sol, sendo que 80% da sua produção é exportada para o Japão e 20% comercializado no país. Destes, 40% são vendidos pela internet desidratados, e os 60% restantes vendidos as indústrias e transformados em comprimidos, extratos e produtos naturais (STEFANELLO, 2015).

Segundo a Associação Nacional dos Produtores de Cogumelos (ANPC) a produção de AbM estimada por ano é de 500 toneladas, mesmo o Brasil não possuindo em sua tradição e cultura o consumo frequente de cogumelos. Os brasileiros costumam consumir apenas 160 g de cogumelos per capita, enquanto países europeus consomem cerca de 2 kg e países asiáticos 8 kg.

Figura 4. Basidiocarpos de AbM.



Fonte: www.agaricusblazeimurill.com.br (2022)

Acesso em: Abril/2022

A utilização dos cogumelos como nutracêutico e suas comprovadas propriedades medicinais aceleraram pesquisas, com introdução de novas técnicas produtivas e produtos (FURLANI; GODOY, 2005).

3.5.1 Composição e Benefícios

Os basidiocarpos secos do cogumelo do sol apresentam um valor nutritivo mais elevado do que diversas hortaliças, possuindo em sua maior quantidade proteína (40-45%), em seguida, carboidratos (38-45%), fibras (6-7%), minerais (5-7%) e gordura (3-5%). Contém ainda, potássio, cálcio, vitaminas B1, B2 e niacina (SILVA *et al*, 2009).

Devido as exigências comerciais, normalmente o AbM é colhido e comercializado em sua forma imatura (figura 5) com o “chapéu” ainda fechado. Basidiocarpos jovens normalmente apresentam um maior teor de proteínas se comparados aos basidiocarpos maduros, porém Soares *et al* (2007) verificou em seus estudos que o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante não tendem a ter alterações com relação ao amadurecimento do cogumelo (SOARES *et al*, 2007; RODRIGUES *et al*, 2003).

Figura 5. Basidiocarpos imaturo (YB) e maduro (MB) de AbM.



Fonte: SOARES *et al* (2007)

Dos compostos encontrados no AbM, pode-se dividi-los em 3 tipos: moléculas de alto peso molecular (macromoléculas), moléculas hidrofílicas e moléculas lipofílicas. Dos grupos das macromoléculas tem-se por exemplo os polissacarídeos e complexos polissacarideo-proteínas contendo beta-glucanos. Nas moléculas hidrofílicas os compostos fenólicos e nas moléculas lipofílicas o ergosterol (SOUZA *et al*, 2017).

As propriedades medicinais do cogumelo relacionam-se com a sua composição, como as β -glucanas, α -glucanas, quitina, mananas, galactanas, xilanas, polissacarídeos, glicoproteínas, triterpenos, tocoferóis, catequina, ácido cafeico e ácido gálico (SANTOS, 2013).

Na literatura encontram-se muitas propriedades farmacológicas associadas ao cogumelo do sol. A primeira a ser relatada foi após sua descoberta por volta de 1980, Dr. Iwade realizava suas pesquisas com o AbM quando descobriu um polissacarídeo chamado β -D-glucan, o qual age diretamente em tumores malignos inibindo o seu crescimento (SOUZA, 2001).

O efeito antitumoral é um dos mais citados na literatura, por autores como Takaku, Kimura, e Okuda (2001), YU *et al* (2009) e Hetland *et al* (2008). O ergosterol encontrado no AbM, é um dos componentes com maior ação antitumoral, Takatu, Kimura, e Okuda (2001) relataram diminuição de 20% em tumores e paralisação do seu crescimento.

Com relação ao sistema imunológico e consequente defesa do organismo contra células tumorais, Junior (1999) relatou um aumento triplicado de células natural killer (NK) com o consumo de AbM. Essas células são capazes de destruir tumores sem a necessidade de intervenções como radioterapia ou quimioterapia.

Um efeito antioxidante e gastroprotetor foi associado ao extrato hidroalcoólico de Abm, onde Neto *et al* (2022) identificaram nesse extrato compostos como, manitol, ácido málico, ácido piroglutâmico, L-agaritina e L-valina.

Estudos também relatam benefícios do AbM na hipertensão arterial sistêmica, Singi *et al* (2006) relatou diminuição da HAS e frequência cardíaca em ratos com a aplicação endovenosa do extrato aquoso de AbM.

HSU *et al* (2007) realizou ensaios clínicos com paciente portadores de diabetes tipo 2 que faziam uso de metformina e glicazida para avaliar o potencial

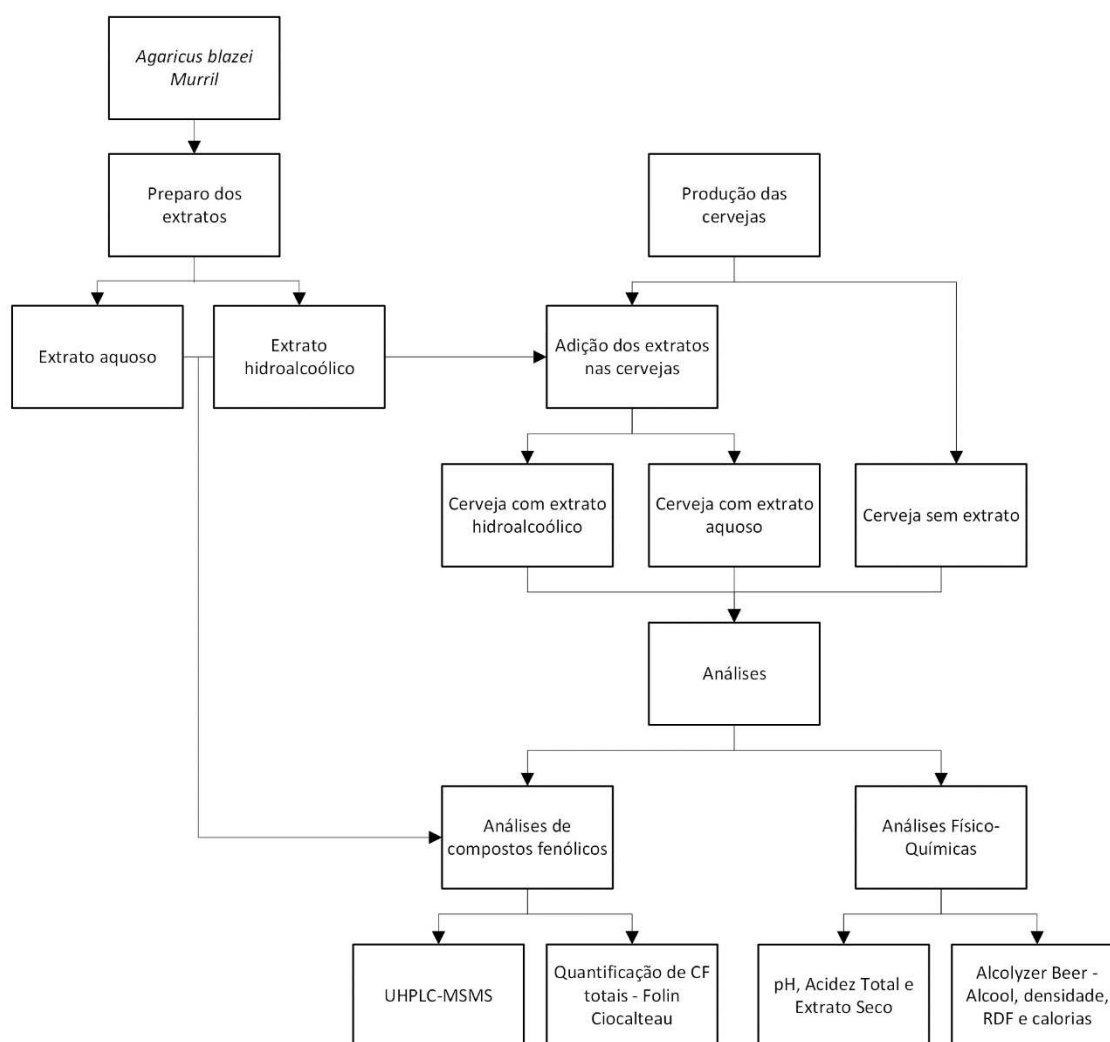
antidiabético do AbM. O grupo que recebeu suplementação com AbM apresentou uma grande melhora na resistência a insulina com relação ao grupo que recebeu placebo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 FLUXOGRAMA EXPERIMENTAL

As metodologias utilizadas no decorrer da pesquisa estão compiladas no fluxograma geral abaixo (figura 6) e detalhadas ao longo do item 4.

Figura 6. Fluxograma experimental geral.



Fonte: Autora (2022).

4.2 OBTENÇÃO DO COGUMELO

As amostras de *Agaricus blazei* Murrill foram obtidas em meados do mês de fevereiro/2019 através de doação da empresa DEC Enterprises Comercial

Ltda (Blazei Murill® - <https://loja.agaricusblazeimurrill.com.br>) localizada em Atibaia (SP).

Figura 7. Higienização e separação dos cogumelos na Blazei Murill.



Fonte: www.agaricusblazeimurrill.com.br (2022).

Acesso em: Abril/2022

Foram fornecidos pela empresa os basidiocarpos imaturos previamente secos e higienizados (figura 7 e figura 8), provenientes do descarte por não possuírem os padrões estéticos mínimos para serem comercializados. As amostras foram acondicionadas em recipiente fechado e ao abrigo da luz até o preparo dos extratos.

Figura 8. Amostras de AbM recebidas



Fonte: Autora (2022).

4.2 PREPARO DOS EXTRATOS

Foram preparados dois extratos para incorporação nas cervejas, adaptados de Stefanello *et al* (2015), sendo um hidroalcoólico e um aquoso. Os cogumelos foram previamente triturados em liquidificador industrial (Vitalex® - LQI-08) para facilitar a extração (figura 9).

Figura 9. Cogumelos recebidos e após trituração.



Fonte: Autora (2022).

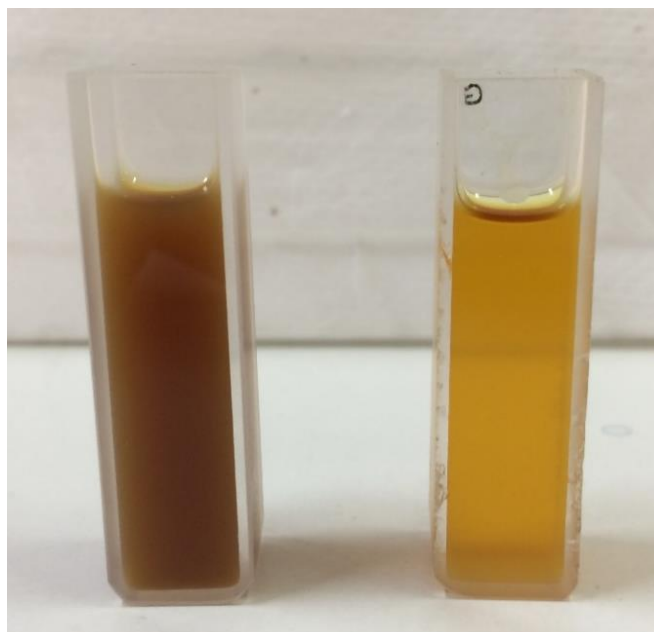
Os extratos (figura 10) foram preparados na proporção 1:10 (m/v) utilizando 100g dos cogumelos secos e triturados para 1 litro de solvente, sendo, álcool de cereais 80% para o extrato hidroalcoólico e água deionizada para o extrato aquoso.

As misturas permaneceram em aquecimento até 70 °C em banho-maria (Bio-Eng® – BE 3100) por 60 minutos, com agitação constante. Em seguida os extratos foram filtrados à vácuo utilizando papel filtro qualitativo (100g/m²). Ao final de cada extração obteve-se cerca de 600 mL de extrato cada.

Apenas o extrato hidroalcoólico foi submetido a rota evaporação (25-30 rpm) a 60 ± 5 °C para evaporação do solvente, pois a Instrução Normativa nº 65 de 2019, estabelece que é proibida a adição de álcool de qualquer origem na cerveja. Após rotaevaporação o extrato hidroalcoólico apresentou um rendimento de 300 mL.

Ambos os extratos líquidos foram adicionados aos fermentadores no momento inicial da maturação de cada cerveja, sendo 600 mL do extrato aquoso e 300 mL do extrato hidroalcoólico.

Figura 10. A esquerda o extrato aquoso e a direita o extrato hidroalcoólico.



Fonte: Autora (2022).

4.3 PRODUÇÃO DA CERVEJA

4.3.1 Matéria Prima da Cerveja

Os materiais utilizados na produção das cervejas estão descritos na tabela 3, com as quantidades necessárias para a produção de uma cerveja com 30 litros. Foram realizadas no total três brasagens de cerveja.

Tabela 3. Materiais utilizados para uma brasagem de 30 litros.

Materiais	Quantidade
Malte Pilsen (70%)	4,40 kg
Malte de Trigo Claro (30%)	1,90 kg
Lúpulo Magnum	14 g
Lúpulo Tradition	14 g
Levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Munich)	1 envelope (11g)
Água deionizada	30 L
Extrato líquido de AbM	300 – 600 mL*

* 300 mL para o extrato hidroalcolólico e 600 mL para o extrato aquoso.

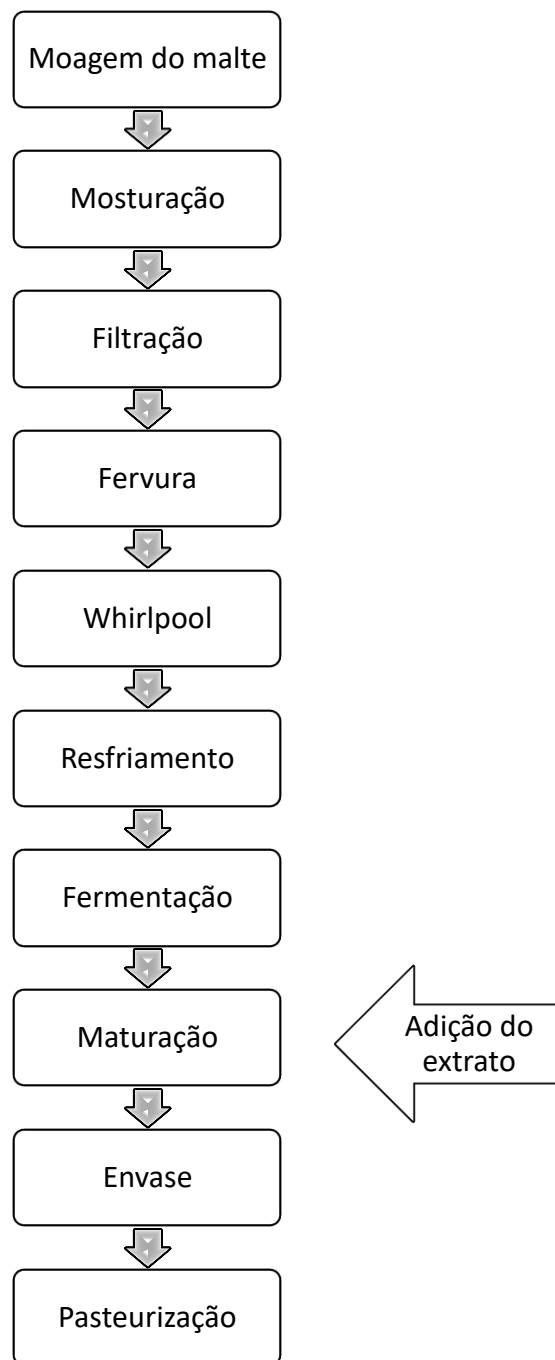
Fonte: Autora (2022).

4.3.2 Processo Cervejeiro

O processo, representado na figura 11, foi realizado a partir de adaptações da metodologia de Rossoni (2017), onde foram realizadas 3 brassagens de 30 litros cada. Ambas as produções foram realizadas com as mesmas quantidades de matéria-prima e metodologia, diferindo entre elas apenas na adição dos extratos durante a maturação. Produziu-se então uma cerveja para adição do extrato aquoso, uma cerveja para adição do extrato hidroalcolólico e uma cerveja base, sem adição de nenhum extrato.

As cervejas foram desenvolvidas no laboratório de tecnologia de alimentos do Instituto Federal do Paraná (IFPR) – Campus Palmas, com o auxílio de um equipamento semi-automatizado de Brassagem BEERMAX – EVOLUTEC[®] (Figura 12).

Figura 11. Fluxograma do processo de produção das cervejas.



Fonte: Autora (2022).

Figura 12. Painel Semi-automatizada de Brassagem BEERMAX – EVOLUTEC®.



Fonte: Autora (2022).

4.3.2.1 Moagem

A produção se inicia com a homogeneização e moagem dos grãos. Os grãos foram previamente umedecidos com água em temperatura ambiente e utilizando um moedor de rolos manual, os maltes foram moídos por duas vezes, até a abertura ou quebra dos grãos.

4.3.2.2 Mosturação

No equipamento de brassagem adicionou-se 30 litros de água deionizada juntamente com a cesta de metal contendo os grãos, dando início ao aquecimento até cerca de 30 °C.

A mosturação foi realizada em 2 etapas, com temperaturas e tempos distintos para hidrólise do amido, a primeira etapa a 65 °C por 60 minutos e a segunda etapa a 75 °C por 10 minutos. Após a mosturação, ocorre a recirculação do mosto sobre os grãos e a retirada destes do equipamento.

4.3.2.3 Fervura, whirlpool e resfriamento

A fervura do mosto foi realizada por 60 minutos a cerca de 96 °C. No início desta etapa adiciona-se o lúpulo magnun ao equipamento e após 30 minutos de fervura adiciona-se o lúpulo tradition. Ao concluir a fervura, é realizado o *whirlpool*, prática que consiste em uma agitação vigorosa do mosto em apenas um sentido, sua finalidade é concentrar os sedimentos no fundo do equipamento.

O mosto foi resfriado até a temperatura de 25 °C utilizando o chiller de imersão do equipamento e então transferido para os fermentadores (figura 13).

Figura 13. Fermentador lacrado.



Fonte: Autora (2022).

4.3.2.4 Preparo das leveduras

Foram utilizados 3 envelopes (11g) de *Saccharomyces cerevisiae* (Munich - para cervejas de trigo), que foram preparadas separadamente. As leveduras foram previamente hidratadas com 200mL de água para cada envelope e sua contagem em microscópio foi realizada, chegando a $2,25 \times 10^9$ cél/mL em cada fermentador. Antes da inoculação no fermentador, as leveduras receberam 200mL do mosto para cada envelope e permaneceram em agitação constante

com um agitador magnético (Global Trade Technology® – GTAMB20L), em presença de oxigênio por 15 minutos.

4.3.2.5 Fermentação

A fermentação das cervejas foi acompanhada diariamente através do teor de sólidos solúveis (°Brix) utilizando o refratômetro manual portátil (Megabrix® - RHB-32/ATC). A fermentação ocorreu em refrigerador (Consul® - CRA30, figura 14) com temperatura controlada a 17 °C durante 5 dias. As cervejas iniciaram a fermentação com 14 °Brix e considerou-se o término da fermentação com a estabilização do mesmo, sendo 7 °Brix.

Figura 14. Fermentador na etapa de fermentação em geladeira.



Fonte: Autora (2022).

4.3.2.6 Maturação e adição dos extratos.

No início dessa etapa os extratos recém preparados e filtrados foram adicionados no topo dos fermentadores por toda a sua extensão, sendo 300 mL do extrato hidroalcolico e 600 mL do extrato aquoso. Os fermentadores continham cerca de 25-26 litros de cerveja cada e após a adição, as cervejas

permaneceram maturando em refrigerador (Consul® - CRA30) por 10 dias a 1 °C.

4.3.2.7 *Priming*, envase e pasteurização

Antes do envase das cervejas realizou-se a adição do *priming* nos fermentadores, que consiste no preparo de uma solução contendo 6 g de sacarose por litro de cerveja dissolvidos em cerca de 200 mL de água. As cervejas foram envasadas em garrafas de vidro âmbar devidamente higienizadas e lacradas com tampas de alumínio com o auxílio de um arrolhador de garrafas manual.

A pasteurização (figura 15) das cervejas foi realizada com metodologia validada de acordo com Danguì *et al* (2018), utilizando o equipamento de brasagem para a pasteurização. As garrafas foram aquecidas até 60 °C por 15 minutos e em seguida resfriadas em gelo.

Figura 15. Garrafas lacradas após envase.



Fonte: Autora (2022).

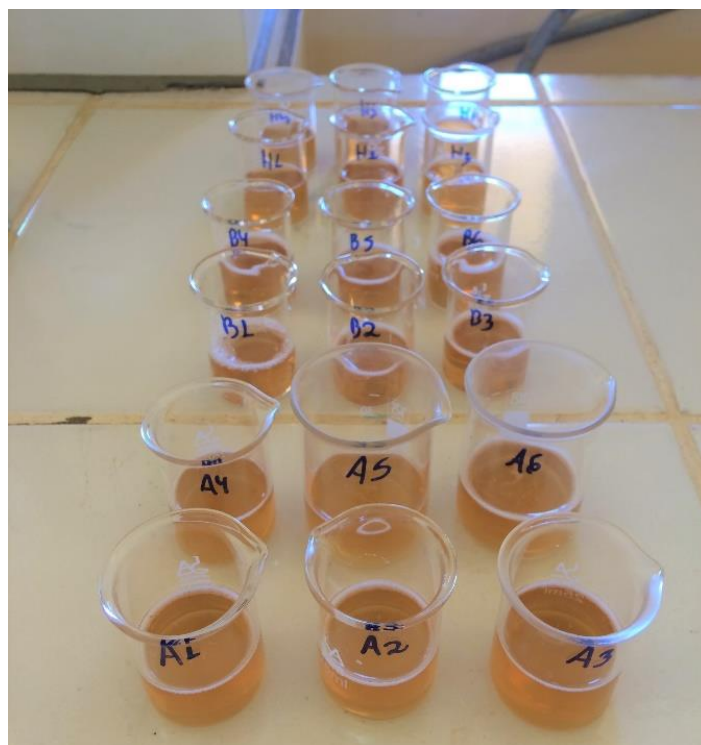
4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram realizadas a fim de avaliar e comparar a qualidade das cervejas produzidas com a legislação e a literatura, avaliando também a possível interferência da adição dos extratos nesses parâmetros.

Para isso, foram realizadas análises de pH, acidez total, extrato seco, álcool densidade, RDF e calorias, todas em sextuplicata, nas 3 cervejas já pasteurizadas, com escolha aleatória das garrafas. Todas as amostras (figura 16) foram previamente descarbonatadas por agitação e para inserção no equipamento Alcolyzer Beer (Anton Paar®) foram também filtradas em papel filtro.

As metodologias de análises foram realizadas conforme os protocolos do Instituto Adolfo Lutz (2008) para bebidas fermentadas.

Figura 16. Amostras de cerveja em sextuplicata.



Fonte: Autora (2021).

4.4.1 pH

A análise de pH foi realizada nas cervejas e nos extratos através de método potenciométrico utilizando um pHmetro de bancada (PHS-38W, Ionlab®)

e um eletrodo de vidro (Kasvi®). Após calibração do equipamento com soluções padrões de pH 4 e 7, mergulhou-se o eletrodo nas amostras e aguardou-se leitura constante do pH.

4.4.2 Acidez Total

A análise de acidez total foi realizada pelo método titulométrico utilizando uma bureta digital portátil (VWR Jencons® – Digitrate Pro). A análise é baseada na reação de neutralização dos ácidos das cerveja com uma solução padronizada de NaOH 0,1 mol/L. Adicionou-se 10mL da amostra em um erlenmeyer com 100mL de água destilada, uma barra magnética e 0,5mL de fenolftaleína. Realizou-se a titulação com o auxílio de um agitador magnético (Global Trade Technology® – GTAMB20L), um pHmetro (PHS-38W, Ionlab®) e um eletrodo de vidro (Kasvi®) imerso na amostra. Considerou-se o ponto de viragem quando a amostra atingiu o pH 8,2 - 8,4.

Os resultados foram expressos em meq/L através da equação:

$$n \times f \times N \times 1000 / V = \text{Acidez em meq/L}$$

Onde, n: volume da solução de NaOH gasto na titulação (mL), f: fator de correção da solução de hidróxido de sódio, N: Normalidade da solução de NaOH e v: Volume da amostra (mL).

4.4.3 Extrato Seco

O extrato seco foi determinado através da pesagem do resíduo seco após a evaporação da água e álcool com aquecimento. Foram adicionados 25mL de cerveja em capsulas de porcelana que permaneceram em aquecimento lento em banho-maria (Bio-Eng® – BE 3100) até se obter um resíduo seco. As cápsulas foram inseridas na estufa (100 ± 5 °C) por 30 min, resfriadas em dessecador e pesadas após 1 hora. O procedimento de secagem em estufa e resfriamento em dessecador foi repetido até se obter peso constante. O cálculo utilizado para obtenção do resultado foi:

$$\% \text{ ext (m/v)} = 100 \times N / V$$

N: massa do resíduo seco em gramas e V: volume da amostra em mililitros. Os resultados foram expressos em % m/v.

4.4.4 Alcolyzer Beer

As análises de álcool (%v/v), densidade (g/cm³), RDF (%) e calorias (kcal/100 mL) foram determinadas com o auxílio do Sistema de Análise de Cervejas Alcolyzer Beer (Anton Paar, DMATM 4500M®). As amostras foram previamente filtradas em papel filtro para inserção no equipamento.

4.5 ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS

As análises de compostos fenólicos tiveram por objetivo quantificar, avaliar e comparar o teor desses nas cervejas e nos extratos produzidos, bem como a possível interferência da adição dos extratos nas cervejas. Para isso, foi realizada a quantificação de compostos fenólicos totais e a caracterização cromatográfica com análise de espectrometria de massas dos compostos.

4.5.1 Quantificação de Compostos Fenólicos Totais com o Reagente de Folin-Ciocalteu

A quantificação de compostos fenólicos totais foi realizada nas amostras de cerveja e extratos em sextuplicata pelo método espectrofotométrico conforme descrito por Singleton e Rossi (1965) com adaptações. Para realização dessa análise as amostras foram diluídas com etanol 70% em 1:20 para as cervejas e 1:50 para os extratos. Foram preparadas soluções de Folin-ciocalteu (Dinâmica®) a 0,2N e carbonato de cálcio (Alphatec®) a 7,5% para análise das amostras.

Em um tubo de ensaio foram adicionados 500 µL da amostra diluída, 2,5mL do reagente de Folin Ciocalteu (0,2N) e 2mL de Na₂CO₃ (7,5%). Após a homogeneização, esta solução ficou sob proteção da luz e em temperatura

ambiente por 2 horas com posterior leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Zhoulin Bio-Spectrum Technology®, modelo SP-22, Beijing, China) a 725 nm.

A curva de calibração foi realizada utilizando uma solução padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich®) nas concentrações de 5 a 150 µg/mL, obtendo a equação da reta: $y = 0,0115x + 0,0378$ com um $r^2=0,99$

Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por litro de cerveja.

4.5.2 UHPLC-HRMS/MS

A caracterização cromatográfica das cervejas e dos extratos foi realizada pelo Laboratório da Central de Produtos Naturais do COMCAP (Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa) da Universidade Estadual de Maringá, conforme Mizuta *et al.* (2020) com adaptações.

As amostras de cerveja permaneceram refrigeradas e os extratos congelados até o envio ao laboratório. Previamente a análise, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos, onde o sobrenadante foi analisado no equipamento.

A análise de cromatografia líquida de ultra-alta eficiência foi realizada utilizando o equipamento da Shimadzu Nexera X2. A separação dos compostos fenólicos foi realizada através da coluna C18 (75 × 2,0 mm i.d.; 1,6 µm Shim-pack XR-ODS III). Com volume de injeção de 3µL. Utilizando como gradiente: A (H₂O) e B (acetonitrila): 2% B 0-1min, 70% B 2-15min, 98% B 16-20min, mantida a 98% B 20-24 min, e 2% B 25-30min, a 40 °C.

A espectrometria de massas de alta resolução foi realizada utilizando espectrômetro Bruker IMPACT II, com fonte de ionização electrospray (ESI), analisador quadrupolo-tempo de voo (Q-TOF) e detector de placa multicanal (MCP). Tensão do capilar 4500 V, com formiato de sódio (10µM) como calibrante. Os parâmetros do gás de secagem foram de 8 L min⁻¹ a 200 °C, com 4 bar de pressão. O gás de colisão foi o argônio (Ar) e energia de colisão foi 10-45 eV. Fragmentação de varredura automática MS/MS com faixa de m/z de 50 a 1000.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos nas análises físico-químicas e quantificação de compostos fenólicos foram submetidos á Análise de Variância (ANOVA) com post hoc Student-Newman-Keuls (SNK), para comparação das médias. A análise foi realizada através do programa SPSS Statistics versão 23.0 para Windows, considerando um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.1.1 Acidez Total, Extrato Seco e pH

O resultado das análises de acidez total, extrato seco e pH estão expressos na tabela 4 e representam a média de seis repetições analíticas.

Tabela 4. Análises físico-químicas das amostras de cerveja.

AMOSTRAS	ACIDEZ TOTAL (meq/L)	EXTRATO SECO (%)	pH
C	24,12 ± 0,63 ^a	6,61 ± 0,09 ^a	4,41 ± 0,01 ^b
CEH	24,35 ± 0,47 ^a	6,91 ± 0,16 ^a	4,53 ± 0,01 ^a
CEA	24,66 ± 0,32 ^a	6,92 ± 0,12 ^a	4,39 ± 0,01 ^b

*C: Cerveja sem extrato; CEH: Cerveja com extrato hidroalcoólico; CEA: Cerveja com extrato aquoso.

**Os resultados foram expressos como média ± erro padrão médio (n=18).

***Letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatística adotando p<0,05 (Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Pode-se observar que não houve diferença significativa entre as amostras com relação as análises de acidez total e extrato seco, não havendo interferência pela adição do extrato. Enquanto na análise de pH a cerveja com adição do extrato hidroalcoólico apresentou um pH de 4,53, levemente maior em relação as demais (tabela 4).

Não foram encontrados estudos que realizaram a incorporação de AbM em cerveja para base de comparação, mas Sousa e Fogaça (2019) realizaram análises físico-químicas em cervejas artesanais e comerciais, encontrando valores de acidez total de 29,7 a 38,2 meq/L para cervejas artesanais, valores esses acima dos encontrados nesse estudo.

Almeida e Belo (2017) encontraram valores de 20 a 53 meq/L em cervejas artesanais, sendo este último, o mais elevado, referente a uma cerveja *Weiss*, com adição de malte de trigo.

Araújo *et al.* (2019) analisaram cervejas puro malte que apresentaram valores de 41,09, 25,08 e 23,17 meq/L, valores próximos ao encontrado nesse estudo.

A análise de acidez total é um teste coadjuvante das análises físico-químicas, pois não existem parâmetros definidos pela legislação vigente (BRASIL, 2009). O nível de acidez é relativo ao tipo de produção e matéria prima utilizada na cerveja, assim como altos níveis podem indicar contaminação bacteriana na bebida (ALMEIDA; BELO, 2017).

A análise de extrato seco apresentou valores de 6,61, 6,91 e 6,92%, sem diferença estatística entre os dados, demonstrando que a adição dos extratos não interferiu no teor de resíduos sólidos na bebida. Almeida e Belo (2017) em suas análises encontraram porcentagens de 5,12 a 5,34% em cervejas artesanais do tipo *Pale Ale*, enquanto a cerveja artesanal do tipo *Weiss* apresentou 4,29%. As cervejas industriais apresentaram taxas menores, sendo de 2,10 a 3,72% para *Pilsen* e 4,25% para *Pale Ale*. Resultados entre 2 e 7% de extrato seco são esperados para cervejas de qualidade. Neste sentido, os valores apresentados pelas cervejas (Tabela 4) estão de acordo com o descrito na literatura.

Sousa e Fogaça (2019) apresentaram resultados de 6,41 até 7,89% para as cervejas artesanais, enquanto as cervejas industriais ficaram na faixa de 3,30 a 4,25%. O extrato seco é a porcentagem dos sólidos presentes na bebida, resultante da evaporação de água e álcool. As elevadas taxas dessa análise em cervejas artesanais resultam dos componentes utilizados e se houve filtração ou não da bebida durante o processo produtivo, visto que as cervejas artesanais são mais encorpadas do que as industriais.

Com relação a análise de pH das cervejas, a cerveja com adição de extrato hidroalcolico de AbM apresentou um pH de 4,53, enquanto a cerveja com adição do extrato aquoso e a cerveja sem extrato tiveram valores de 4,41 e 4,39 respectivamente. O pH do solvente e os compostos extraídos podem ter contribuído para essa alteração.

A cerveja é uma bebida de caráter ácido com pH entre 4 e 5, portanto, mesmo com a adição dos extratos, os valores (tabela 4) estão dentro do esperado para cervejas (ALMEIDA; BELO, 2017).

As cervejas artesanais analisadas por Sousa e Fogaça (2019) apresentaram pH entre 4,38 a 4,45. O estudo de Goiana e colaboradores (2016)

com cervejas artesanais do tipo *Pale Ale* apresentaram valores de pH entre 4,15 e 4,49. Araújo *et al.* (2019) também relataram valores semelhantes para cervejas artesanais puro malte, entre 4,25 a 4,41 de pH.

Teixeira e Padilha (2021) produziram cervejas do tipo *Stout* com adição de cogumelos Champignon, Shiitake e Cordyceps. As cervejas com adição do Champignon e do Cordyceps apresentaram pH de 4,06, a cerveja com Shiitake 3,85 e a cerveja controle 3,77 em média. A diferença de pH dessas cervejas pode ter relação com o pH dos cogumelos, visto que foram adicionados secos durante a etapa da fervura.

5.1.2 *Alcolyzer Beer*

A tabela 5 descreve os resultados encontrados nas análises de teor RDF, teor alcoólico, densidade e calorias.

Tabela 5. Análises físico-químicas das amostras de cerveja realizadas com o equipamento *Alcolyzer Beer*.

AMOSTRAS	RDF (%)	ÁLCOOL (% v/v)	DENSIDADE (g/cm ³)	CALORIAS (kcal/100ml)
C	67,82 ± 0,06 ^a	6,42 ± 0,01 ^b	1,008 ± 0,00 ^b	52,90 ± 0,08 ^b
CEH	68,32 ± 0,06 ^a	6,63 ± 0,02 ^a	1,008 ± 0,00 ^b	54,17 ± 0,13 ^a
CEA	65,37 ± 0,27 ^b	5,90 ± 0,05 ^c	1,009 ± 0,00 ^a	50,42 ± 0,29 ^c

*C: Cerveja sem extrato; CEH: Cerveja com extrato hidroalcoólico; CEA: Cerveja com extrato aquoso.

**Os resultados foram expressos como média ± erro padrão médio (n=18).

***Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística adotando p<0,05 (Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Nota-se que houve diferença estatística entre as amostras em todos os parâmetros analisados, porém, as análises de RDF e densidade apresentaram diferença apenas na CEA para as demais, enquanto o teor alcoólico e calorias apresentaram diferença entre as três cervejas (tabela 5).

O RDF, ou grau real de fermentação, nos permite avaliar em porcentagem a transformação do açúcar, contido no mosto, em álcool e CO₂, avaliando a eficiência da fermentação (TOZETTO, 2017). A CEA apresentou

uma porcentagem de 65,37% de RDF, valor menor do que as demais amostras, que obtiveram 67,82% para C e 68,32% para CEH.

Oliveira, Faber e Plata-Oviedo (2015) desenvolveram cervejas realizando a substituição parcial do malte por mel, onde o grau real de fermentação das cervejas ficou entre 64,2 a 64,4%. Botelho (2009) analisou cervejas comercializadas em Belo Horizonte (MG) e encontrou valores de RDF entre 37,47 a 69,02%. Segundo Nielsen e Erdal (2005) as cervejas devem apresentar valores de RDF entre 65 a 85%, e apesar de apresentarem diferenças entre si, as amostras estão dentro do padrão proposto.

As três cervejas elaboradas neste estudo foram desenvolvidas de forma artesanal, em escala piloto e fermentadas separadamente. Vários fatores podem ter influenciado na diferença de RDF, como: Alterações de temperatura durante a fermentação, quantidade e moagem de matéria prima, viabilidade das leveduras e alterações na temperatura das rampas na brassagem, gerando menor quantidade de açúcares fermentescíveis disponível.

A diminuição no grau de fermentação da CEA refletiu no teor alcoólico final, onde esta apresentou o menor valor entre as amostras (5,90%). A amostra C apresentou 6,42%, e CEH a maior porcentagem alcoólica de 6,63%. Por mais que tenha sido realizada a rota evaporação do solvente no extrato hidroalcoólico sugere-se que este pode não ter sido eliminado completamente, gerando um aumento no teor alcoólico de CEH, visto que seu RDF não diferiu da cerveja sem o extrato.

A Instrução Normativa nº 65 de 2019, estabelece os padrões de qualidade e identidade para cervejas, definindo a bebida quando essa conter mais de 2,00% de álcool (BRASIL, 2019). A adição de álcool de qualquer origem é proibida pela legislação.

As cervejas do tipo *Stout* com adição de cogumelos, produzidas por Teixeira e Padilha (2021) apresentaram diferentes teores de álcool, sendo 6,1% para a cerveja controle, 7,3% para a cerveja com champignon e 5,2% para a cerveja de shitake e a cerveja com cordyceps, valores próximos aos encontrados neste estudo.

Araújo *et al.* (2019) relataram diferentes porcentagens de teor alcoólico para cervejas puro malte, de 3,02 a 5,07%. Assim como Sousa e Fogaça (2019)

com porcentagens entre 3,15 a 5,4%. As cervejas *Pale Ale* analisadas por Goiana *et al.* (2016) apresentaram um teor de 5,3 a 6,2%.

A densidade da C e CEH foram de 1,008 g/cm³ enquanto a CEA apresentou uma densidade de 1,009 g/cm³. Apesar da diferença, as cervejas encontram-se dentro dos valores esperados para cervejas artesanais, sendo de 1,007 a 1,022 g/cm³ (SOUZA; FOGAÇA, 2019).

As cervejas analisadas por Goiana *et al.* (2016) apresentaram densidade entre 1,005 a 1,020 g/cm³ e Sousa e Fogaça (2019) relataram densidades entre 0,9903 a 0,9944 g/cm³, valores menores do que os encontrados nesse estudo. A densidade está relacionada com a quantidade de sólidos solúveis e a % de álcool final, por isso CEA que apresentou um menor teor de RDF e menor graduação alcoólica também teve a maior densidade.

O valor energético de um alimento pode variar de acordo com a matéria prima utilizada e o modo de processamento (VENTURINI, 2016). As três cervejas produzidas apresentaram valores distintos de calorias, sendo 52,90, 54,17 e 50,42 kcal/100mL para C, CEH e CEA respectivamente. A graduação alcoólica influencia diretamente no valor energético da cerveja, pois o etanol fornece 7,1 kcal/g para a bebida (Kachani *et al.*, 2008). Segundo a legislação (BRASIL, 2019) para ser considerada uma "cerveja light" a cerveja deve apresentar teor máximo de 35 kcal/100 mL, o que não se encaixa para as cervejas produzidas.

Tozetto (2017) desenvolveu uma cerveja com adição de gengibre que contém 27 kcal/100 mL, enquanto Reis (2016) encontrou valores de 40,31 kcal/100 mL para cerveja pilsen com milho, 47,9 kcal/100 mL para cerveja 100% pilsen e 39,7 para cerveja pilsen industrializada, valores menores do que os encontrados nesse estudo.

5.2 ANÁLISES DE COMPOSTOS FENÓLICOS

5.2.1 Quantificação de Compostos Fenólicos Totais com o Reagente de Folin-ciocalteu

Os resultados da análise de quantificação de compostos fenólicos das cervejas e dos extratos estão descritos na tabela 6.

Tabela 6. Resultados da análise de quantificação de compostos fenólicos nas amostras.

AMOSTRAS	Compostos Fenólicos (mg EAG/L)
C	268,81 ± 1,80 ^c
CEH	298,43 ± 4,46 ^a
CEA	282,83 ± 5,81 ^b
EH	1250,583 ± 6,02 ^a
EA	1069,388 ± 5,33 ^b

*C: Cerveja sem extrato; CEH: Cerveja com extrato hidroalcoólico; CEA: Cerveja com extrato aquoso; EH: Extrato hidroalcoólico; EA: Extrato Aquoso.

**Os resultados foram expressos como média ± erro padrão médio (n=18/6).

***Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística adotando $p < 0,05$ (Student-Newman-Keuls após ANOVA oneway).

Analisando a tabela pode-se notar que houve diferença estatística em todas as amostras. Entre as cervejas, CEH foi a que apresentou maior teor de fenólicos, seguida da CEA e C. Entre os extratos, EH também apresentou maior teor de compostos fenólicos, corroborando com os dados encontrados nas cervejas.

Os valores sugerem que houve incorporação dos compostos fenólicos nas cervejas através da adição dos extratos, destacando-se a cerveja com o extrato hidroalcoólico, que demonstrou um maior teor de fenólicos em relação a cerveja com o extrato aquoso.

A cerveja é uma bebida que já contém compostos fenólicos oriundos do malte (70-80%) e do lúpulo (20-30%), porém, a quantidade tende a variar conforme a matéria prima utilizada, tipo de cerveja e de fabricação (GERHAUSER, 2005).

Julião *et al.* (2020) analisaram o teor de compostos fenólicos em cervejas sem adjunto comercializadas em Sobral - CE. As cervejas artesanais apresentaram maior quantidade de compostos em relação as cervejas industrializadas, sendo 149,82 (mg L⁻¹) a cerveja com maior teor das artesanais e 80,86 (mg L⁻¹) a de maior teor das industrializadas. Ambas com quantidades menores que as encontradas nesse estudo. Resultados semelhantes foram

encontrados por Albanese *et al.* (2018) onde o teor máximo encontrado em cervejas produzidas em laboratório foi de 122 mg AG/L.

Na literatura pode-se encontrar muitos estudos realizando a incorporação de frutas, plantas e especiarias em cerveja, com o intuito ou não de aumento dos compostos bioativos. As cervejas com cogumelos produzidas por Teixeira e Padilha (2021) também demonstraram a um aumento do teor de compostos fenólicos com relação a cerveja controle. A cerveja com shiitake e cordyceps apresentaram valores de 27,90 e 29,82 mgGAE/g.L⁻¹. A cerveja controle e com champignon tiveram valores menores, em torno de 22 mgGAE/g.L⁻¹

Vogel (2017) desenvolveu cervejas com adição de frutas “*berries*” como o morango e mirtilo. A *fruitbier* desenvolvida pelo autor apresentou maior quantidade de compostos fenólicos que as demais analisadas, sendo de 95 mg AG L⁻¹ e sugerindo que os compostos da fruta foram incorporados na cerveja.

Fonseca (2020) produziu cervejas do tipo *Ale* com adição de extratos de hibisco em diferentes quantidades, temperatura e tempo de extração. Os valores de fenólicos obtidos pelo autor variaram de 389,66 a 749,41, observando que valores mais altos estavam associados a maiores temperaturas, tempo de extração dos extratos e quantidade do adjunto.

Para uma extração eficiente é prudente utilizar solventes com diferentes polaridades, obtendo maior quantidade de compostos. A utilização do etanol como solvente tende a extrair compostos como os ácidos fenólicos pela sua característica polar (MAZZUTTI, 2012).

Os extratos de AbM desenvolvidos por Mazzutti (2012) com diferentes solventes e técnicas, apresentaram maior rendimento com utilização da água e etanol como solvente, porém, a maior quantidade de compostos fenólicos foi encontrada no extrato realizado por maceração etanólica.

Resultados distintos foram relatados por Soares *et al.* (2007), onde o extrato de AbM com maior quantificação de fenólicos foi o aquoso a quente (60°C), que simula a produção do chá e obteve 2,55 mg/mL. A extração com álcool de cereais 25% resultou em 1,97 mg/mL e a extração com etanol absoluto foi a que apresentou menor dosagem, sendo 0,49 mg/mL. Comparando com os dados desse estudo, o extrato aquoso a quente de Soares *et al.* (2007) apresentou uma quantidade de fenólicos menor do que a cerveja sem o extrato.

5.2.2 UHPLC-HRMS/MS

Foram detectados 4 compostos fenólicos presente nas amostras (Tabela 7) com massas correspondentes ao ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, ácido para-cumárico e ácido gálico. Os espectros de massas estão dispostos no Apêndice.

Os compostos detectados possuem baixo peso molecular e sugerem pertencer a classe dos ácidos fenólicos. Não foram detectados compostos correspondentes a classe dos flavonóides.

Tabela 7. Compostos fenólicos identificados nas amostras.

Composto Identificado	Fórmula molecular	Presença nas amostras
Ácido Benzoico	C ₆ H ₅ COOH	EH; EA; C; CH; CA
Ácido hidroxibenzoico	C ₇ H ₆ O ₃	EH; EA; CH; CA
Ácido para-cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	EH; CH
Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	EH; EA

*C: Cerveja sem extrato; CEH: Cerveja com extrato hidroalcoólico; CEA: Cerveja com extrato aquoso; EH: Extrato hidroalcoólico; EA: Extrato Aquoso.

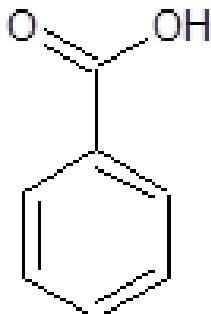
Gasekca *et al* (2018) avaliou o perfil fenólico de cogumelos *Agaricus* e relatou a presença de diversos ácidos fenólicos. O *Agaricus brasiliensis* (AbM) foi o que apresentou o maior teor desses ácidos, principalmente o ácido gálico, sendo detectados também os compostos encontrados nesse estudo, sendo o ácido benzoico, ácido hidroxibenzoico, ácido para-cumárico e ácido gálico.

A ausência de flavonoides em cogumelos *Agaricus*, relatado nesse e em outros estudos, deve-se a falta das enzimas necessárias para sua síntese, porém, flavonoides podem estar presentes em cogumelos pois estes podem absorvê-los a partir de substratos de plantas (GESEKCA *et al.* 2018).

Pode-se observar que o ácido benzoico (figura 17) foi identificado em todas as amostras analisadas e o único encontrado na amostra de cerveja sem extrato. O ácido benzoico é considerado o ácido carboxílico aromático mais simples e é vastamente utilizado como conservante em alimentos, medicamentos e cosméticos. Encontrado naturalmente em plantas, cogumelos, frutas e produtos fermentados como cervejas, vinho e iogurte. Este composto foi

identificado também por Moura-Nunes *et al.* (2016) em diferentes estilos de cerveja.

Figura 17. Fórmula estrutural do ácido benzóico.

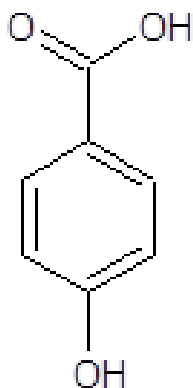


Fonte: Autora, 2022.

O ácido hidroxibenzoico (figura 18) foi encontrado em todas as amostras com exceção da cerveja sem extrato. O composto é do grupo dos ácidos fenólicos e é um isômero do ácido salicílico, normalmente encontrado em cervejas por estar presente no malte e no lúpulo. Foi identificado também por Cheiran *et al.* (2019) em cervejas de diferentes estilos.

Zhai *et al.* (2021) utilizaram cepas de *Agaricus brasiliensis* e *Agaricus bisporus* para fermentar trigo integral e identificaram o ácido 4-hidroxibenzoico nas amostras.

Figura 18. Fórmula estrutural do ácido hidroxibenzoico.



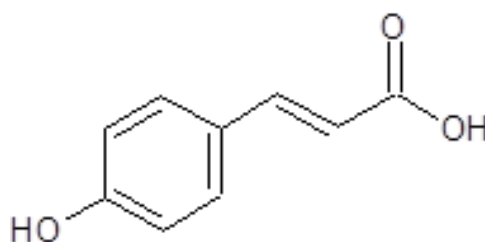
Fonte: Autora, 2022.

O ácido para-cumárico (figura 19) foi encontrado apenas na amostra do extrato hidroalcolólico e na cerveja com o extrato hidroalcolólico. A presença

desse ácido apenas nestas amostras sugere melhor extração com o solvente hidroalcolico do que com o aquoso. O ácido para-cumárico é um ácido fenólico derivado do ácido cinâmico e encontrado tanto em cogumelos como em cervejas (ZHAO *et al.*, 2010; GESEKCA *et al.* 2018).

O ácido para-cumárico foi encontrado em cervejas tido lager por Zhao et al. (2010), em diferentes estilos de cervejas por Cheiran et al. (2019), Moura-Nunes et al. (2016) e Marques et al. (2017).

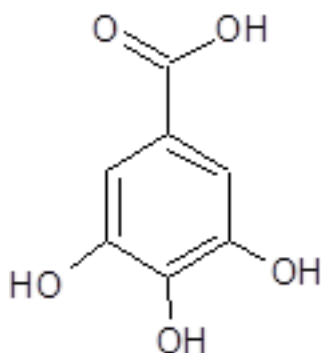
Figura 19. Fórmula estrutural do ácido para-cumárico.



Fonte: Autora, 2022.

O ácido gálico foi encontrado apenas no extrato hidroalcolico, que consequentemente apresentou maior dosagem na análise de quantificação de fenólicos utilizando o reagente de folin ciocalteau e ácido gálico como padrão. Esse composto é um dos principais fenólicos encontrados em cogumelos e tem baixo peso molecular, o que facilita na absorção do composto pelo intestino. (STEFANELLO, 2013; FISCHMANN *et al.* 2020).

Figura 20. Fórmula estrutural do ácido gálico



Fonte: Autora, 2022.

Apesar do conhecimento existente sobre o potencial antioxidante dos ácidos fenólicos *in vitro*, é prudente realizar mais estudos a cerca da sua ação *in*

vivo, pois ainda não se tem dados relativos a absorção, concentração plasmática ideal e biodisponibilidade para efeito benéfico em DCNT (SOARES, 2002).

CONCLUSÕES

A incorporação de extratos de AbM na cerveja se mostrou uma alternativa rentável para incrementação de compostos fenólicos na bebida, visto que a matéria prima utilizada para produção da cerveja não é explorada comercialmente, devido aos padrões estéticos desejados para comercialização.

As cervejas desenvolvidas apresentaram estar dentro dos padrões descritos para análises físico-químicas e com quantidades maiores de compostos fenólicos do que a cerveja sem extrato. Porém é interessante ressaltar que a produção artesanal é passível de erros que podem trazer diferenças para cada cerveja produzida. As cervejas apresentaram um alto teor alcoólico, provocado inclusive pela adição do extrato, sugere-se mais pesquisas para diminuição desse teor ou remoção completa do solvente. Uma análise sensorial das bebidas desenvolvidas demonstraria a preferência do consumidor, visto que os extratos podem alterar as características organolépticas.

Foram identificados 4 compostos fenólicos nas amostras, sendo o ácido benzóico, ácido hidroxibenzoico, ácido para-cumárico e ácido gálico. Na cerveja com adição do extrato hidroalcoólico foi detectada mais diversidade de compostos fenólicos e em maior concentração.

A análise utilizou uma metodologia de busca não direcionada e de caráter exploratório, vários fatores podem ter influenciado esse resultado, como armazenamento das amostras, métodos de extração e análise.

Não foram encontrados trabalhos semelhantes a esse utilizando o AbM, portanto, de acordo com os resultados obtidos, o presente trabalho demonstra grande potencial da bebida como um alimento funcional, inclusive com ação coadjuvante no tratamento de DCNT.

REFERÊNCIAS

ALBANESE, L. *et al.* Innovative beer-brewing of typical, old and healthy wheat varieties to boost their spreading. **Journal of Cleaner Production**, v. 171, p. 297-311, 2018

ALMEIDA, D. S. de; BELO, R. F. C. Análise físico-química de cervejas artesanais e industriais comercializadas em Sete Lagoas – MG. **Revista Brasileira de Ciências da Vida** – FCV. 2017

ANDRADE, A. G. de; DE OLIVEIRA, L. G. Principais consequências em longo prazo relacionadas ao consumo moderado de álcool. **Saúde Direta**. p. 37-66 2009.

ANGELO, P. M., JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 66(1): 1-9, 2007.

ARAÚJO, B. *et al.* Análises físico-químicas de cervejas vendidas no comércio local de Teresina – PI. **59º Congresso Brasileiro de Química**. 2019.

ARIMOTO-KOBAYASHI, S. *et al.* Inhibitory effects of heterocyclic amine induced DNA adducts formation in mouse liver and lungs by beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p. 812-815, 2005.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PRODUTORES DE COGUMELOS (ANPC). Cogumelos. 2022 Disponível em: < www.anpccogumelos.org > Acesso em: Abril/2022

BAMFORTH, C.W.; RUSSEL, I.; STEWART, G. **Beer and health. Handbook of alcoholic Beverages series. Beer** – A quality Perspective. USA: Elsevier; Cap. 8, p.229-243, 2009.

BARROS, D. M. *et al.* A influência da transição alimentar e nutricional sobre o aumento da prevalência de doenças crônicas não transmissíveis. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v.7, n.7, p.74647-74664, jul. 2021,

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-656, 2009.

BOTELHO, B.G. Perfil e teores de aminos bioativas e características físico - químicas em cervejas. 75f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2009

BRASIL. Casa Civil. Decreto Nº 6.871, de 4 de julho 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”. Brasília, **DOU: Diário Oficial da União**, 2009.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário da Cerveja no Brasil 2018: Crescimento e Inovação. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Plano de Ações Estratégicas para o enfrentamento das Doenças Crônicas e Agravos não Transmissíveis no Brasil 2021-2030. **Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde**. Brasília, 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa, nº: 65, de 10 de dezembro de 2019. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para aos produtos de cervejaria. Brasil. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2019
- BOTELHO, B. G. Perfil e teores de aminas bioativas e características físico-químicas em cervejas. 2006. 75 f. **Dissertação de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos** -Universidade Federal de Minas Gerais. Farmácia, UFMG, Belo Horizonte, MG, 2009
- CHEIRAN, K. P. et al. Simultaneous identification of low-molecular weight phenolic and nitrogen compounds in craft beers by HPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, 286, 113–122. 2019.
- DANGUI, A. Z. *et al.* Validação de metodologia de pasteurização em cervejas artesanais. **Anais do VIII Contextos e Conceitos Mostra de Produção Científica e Extensão**. Instituto Federal do Paraná. 2018.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão acadêmica**, v. 5, n. 1, 2004.
- DRAGONE, G.; SILVA, T. A. O.; SILVA, J. B. A. Cerveja. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. Blucher, 2ª edição, v.1. 2016. Cap.3.
- DRAGONE, G. ALMEIDA; SILVA, J. B. *Bebidas Alcoólicas: Ciências e tecnologia*. V.1. São Paulo: Edgard Blücher, 2010.
- DUNCAN. B. B. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. **Revista de Saúde Pública**. 46 (suppl 1) • Dez, 2012.
- FISCHMANN, C. *et al.* Suplementos de compostos fenólicos são benéficos à saúde? **Nutrigenômica**. Universidade de São Paulo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. São Paulo, 2020.
- FONSECA, K. T. Cerveja artesanal adicionada de hibisco (*hibiscus sabdariffa* L.): determinação da atividade antioxidante e compostos fenólicos. 2020. **Dissertação (Mestrado em Nutrição)** - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

FURLANI, R.P.Z.; GODOY, H.T. Valor nutricional de cogumelos comestíveis: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.64, n.2, p.149-154, 2005.

GARCIA, C.C. Retórica e Cenário Microcervejeiro nas Regiões Sul e Sudeste. Faculdade de Tecnologia de Araçatuba. **Curso de Tecnologia em Biocombustíveis**. Araçatuba, SP. 2012.

GARCÍA, A. A.; GRANDE, B. C.; GÁNDARA, J. S. Development of a rapid method based on solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the determination of polyphenols in alcohol-free beers. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 175-180, 2004.

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

GAŞECKA, M. *et al.* Profile of phenolic and organic acids, antioxidant properties and ergosterol content in cultivated and wild growing species of *Agaricus*. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 2, p. 259-268, 2018.

GOIANA, M. L. *et al.* Análises Físico-Químicas De Cervejas Artesanais Pale Ale Comercializadas Em Fortaleza, Ceará. In: **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. FAURGS, 2016.

HETLAND, G. *et al.* Effects of the medicinal mushroom *Agaricus blazei Murill* on immunity, infection and cancer. **Scandinavian journal of immunology**, v. 68, n. 4, p. 363-370, 2008.

HORNSEY, I. Elaboracion de Cerveza: microbiologia, bioquímica y tecnologia. **Espanha: Acríbia**. 229p. 1999.

HSU, C. *et al.* The mushroom *Agaricus blazei Murill* in combination with metformin and gliclazide improves insulin resistance in type 2 diabetes: a randomized, double-blinded, and placebo-controlled clinical trial. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 13, n. 1, p. 97-102, 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4, 1020. 2008.

JULIÃO, M. S. da S. *et al.* Avaliação da atividade antioxidante e fenóis totais em cervejas artesanais comercializadas em Sobral-CE. **Atena Editora** - Novas Possibilidades rumo ao Futuro das Ciências Humanas e suas Tecnologias. Cap 18. p. 1-388-416. 2020

Júnior, F. J. *Agaricus* - cogumelo brasileiro com efeitos anti-cancer. **Journal of Biomolecular medicine & Free Radicals**. Vol.5, n. 2, 1999.p. 33-62.

KACHANI, A. T. *et al.* Medida da circunferência da cintura em mulheres dependentes de álcool e outras drogas. In: **XXVIII Congresso da Sociedade**

de **Cardiologia do Estado de São Paulo (SOCESP)**. São Paulo, São Paulo, Brasil. 2008.

LEAL, J. B. *et al.* Resveratrol: composição química e seus benefícios à saúde. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo. Suplementar 1. v.11. n.67. p.620-629. Jan./Dez, 2017.

LIMA, F. O. Estudo comparativo da bioatividade de compostos fenólicos em plantas medicinais. **Tese (Doutorado)**. Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. Rio Grande do Sul, 2013.

MACHADO, W. R. C. *et al.* Incorporação de compostos fenólicos em produtos alimentícios: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v.7, n.5, p.46470-46499. may. 2021.

MALTA, D. C. *et al.* Doenças crônicas não transmissíveis e mudanças nos estilos de vida durante a pandemia de COVID-19 no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. 24: E210009, 2021

MARQUES, D. R, *et al.* Characterization of craft beers and their bioactive compounds. **Chemical Engineering Transactions**, 57, 1747–1752. 2017

MATOS, R.A.G. Cerveja: Panorama Do Mercado, Produção Artesanal, E Avaliação De Aceitação E Preferência. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.

MAZZUTTI, S. *et al.* Obtenção de extrato de Cogumelo do Sol (*Agaricus Brasiliensis*): atividade antioxidante, antibacteriana e antifúngica. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2012.

MIRANDA, A. M. de. *Agaricus brasiliensis* (Cogumelo do Sol): caracterização química e efeitos sobre o perfil de genes relacionados à homeostase do colesterol em ratos. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Ouro Preto, 2015.

MIZUTA, A. G. *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of green tea kombucha at two fermentation time points against *Alicyclobacillus* spp. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 130, p. 109641, 2020.

MORADO, R. Larousse da cerveja. São Paulo. **Larousse do Brasil**, 2009.

MORAES, V. de; LOCATELLI, C. Vinho: uma revisão sobre a composição química e benefícios à saúde. **Evidência**, v. 10, n. 1-2, p. 57-68, 2010.

MOURA-NUNES, N. *et al.* Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidant capacity. **Food Chemistry**, 199, 105–113. 2016.

- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 41, 1523-1542, 2006.
- NETO, J. F. C. *et al.* Gastroprotective effect of hydroalcoholic extract from *Agaricus blazei* Murill against ethanol-induced gastric ulcer in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 115191, 2022.
- NIELSEN, H.; ERDAL, K. The degree of fermentation. **Scandinavian brewers review**. Vol 63, n. 3, p 34-39, 2005.
- OLIVEIRA, M.; FABER, C. R.; PLATA-OVIEDO, M. S. V. Elaboração de cerveja artesanal a partir da substituição parcial do malte por mel. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 6, n. 3, p. 01-10, 2015.
- OLIVEIRA, P. H. R.; REIS, R. R.; Ácido Benzoico (CAS 65-85-0). *Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (6), 2673-2687
- PAULA, T. C. S. de. Consumo de álcool na população idosa brasileira: da prevalência à intervenção. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós Graduação em Psicobiologia. São Paulo, 2021.
- PENNA, N. G.; HECKTHEUER, L. H. R. Vinho e saúde: uma revisão. **Infarma**, v. 16, n. 1-2, p. 64-7, 2004.
- REIS, Elyane Fernandes Lima dos. Produção e análise de cerveja artesanal utilizando adjunto de milho cultivado na região centro-oeste brasileira. 2016. 60 f., il. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Química Tecnológica)—Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- REHM, J.; SAMOKHVALOV, A. V.; SHIELD, K. D. Global burden of alcoholic liver diseases. **Journal of hepatology**, v. 59, n. 1, p. 160-168, 2013.
- RIO, R. F.do. Desenvolvimento de uma cerveja formulada com gengibre (*Zingiber officinalis*) e hortelã do Brasil (*Mentha arvensis*): avaliação de seus compostos bioativos e comparação com dois estilos de cerveja existentes no mercado. **Dissertação**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Rio de Janeiro, 2013.
- ROCHA, B.R. da. *et al.* Influência dos alimentos funcionais na incidência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). **Intercontinental Journal on Physical Education**, e2020021. 3(1). 2021.
- RODRIGUES, S. B. *et al.* Avaliação do potencial antimutagênico do Cogumelo do Sol (*Agaricus blazei*) no sistema methG1 em *Aspergillus* (= *Emericella*) *nidulans*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 513-517, 2003.
- ROSSONI, M. A. Desenvolvimento de cerveja artesanal do estilo *kölsch* utilizando pinhão como adjunto: análises físico-química se sensorial. **Trabalho**

de Conclusão de curso. Repositório Digital da Universidade Federal da Fronteira Sul. 48. 2017

SANTOS, J. M. *et al.* Ação dos alimentos funcionais no tratamento do processo inflamatório causado pela obesidade: uma revisão bibliográfica. **Revista Científica UBM - Barra Mansa (RJ)**, ano XXV, v. 22, n. 43, 2. Sem. p. 23-38. 2020.

SANTOS, P. R. dos. Avaliação da capacidade antioxidante e composição fenólica de cogumelo *Agaricus blazei* Murrill. **Trabalho de conclusão de curso.** Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília. BRASÍLIA, DF, 2013

SANTOS, M. L.; SILVA, T. M.; SOARES, L. R. Doenças crônicas não transmissíveis e saúde do idoso: Um foco nos Fatores relacionados à prevenção das doenças cardiovasculares. **Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão da Uergs (SIEPEX)**. Volume 1. Número 10. 2021.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 2073S-2085S, 2000.

SCHMIDT, M. I. *et al.* Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. **Lancet**. 377:61-74, 2011.

SILVA, A. C. da *et al.* Utilização De Extrato Cogumelo Como Antioxidante Natural Em Óleo Vegetal. **Ciênc. agrotec. Lavras**, v. 33, n. 4, p. 1103-1108, jul./ago. 2009

SILVA, R. N. P. da; DIAS, J. F.; KOBLITZ, M. G. B. Cervejas: relação entre estilos; compostos fenólicos e capacidade antioxidante. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e42210313471-e42210313471, 2021.

SILVA, H. A. LEITE, M. A. DE PAULA, A. R. V. Cerveja e Sociedade. Contextos da Alimentação – **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**. Vol. 4 no 2 – março de 2016.

SINGI, G. *et al.* Efeitos agudos da aplicação endovenosa do cogumelo-do-sol (*Agaricus blazei* Murill) sobre a pressão arterial média e a frequência cardíaca de ratos anestesiados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 480-484, 2006.

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

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**, Araraquara v.19, n.4, p. 491-498, out./dez. 2008

- SOARES, A. A. Atividade antioxidante e compostos fenólicos do cogumelo *Agaricus blazei* Murrill. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Maringá-UEM. 2007, 57 p. 2007
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, v. 15, p. 71-81, 2002.
- SOUSA, V. M.; FOGAÇA, L. C. S. Perfil Físico-Químico de Cervejas Artesanais e Industriais e Adequação dos Rótulos Quanto à sua Graduação Alcoólica. **Id online: Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, vol.13, n.43, p. 440-447. ISSN: 1981-1179. 2019.
- SOUZA, B. M. de. *et al.* Os efeitos terapêuticos de *Agaricus blazei* para a saúde humana. **Monografia**. Centro Universitário de Brasília. 2001.
- SOUZA, C. A. da S. et al. *Agaricus blazei* Bioactive Compounds and their Effects on Human Health: Benefits and Controversies. **Current Pharmaceutical Design**. 23 (19): 2807-2834, 2017
- SOUZA, W. de. Avaliação da atividade antioxidante e compostos fenólicos de extratos vegetais. **Trabalho de conclusão de curso**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Campo Mourão. Curso superior de tecnologia em alimentos. 2013.
- STEFANELLO, *et al.* Efeito da adição de extrato de cogumelo do sol em linguiça suína e avaliação da estabilidade oxidativa e microbiológica do produto. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 171-185, 2015.
- STIPP, M. D. C. *et al.* O consumo do álcool e as doenças cardiovasculares – uma análise sob o olhar da enfermagem. **Escola Anna Nery**, v. 11, p. 581-585, 2007.
- TAOFIQ, O. *et al.* *Agaricus blazei* Murrill from Brazil: an ingredient for nutraceutical and cosmeceutical applications. **Food & function**, v. 10, n. 2, p. 565-572, 2019.
- TAKAKU, Takeshi; KIMURA, Yoshiyuki; OKUDA, Hiromichi. Isolation of an antitumor compound from *Agaricus blazei* Murrill and its mechanism of action. **The Journal of nutrition**, v. 131, n. 5, p. 1409-1413, 2001.
- TEIXEIRA, C. L. P. PADILHA, C. Produção de cerveja de cogumelos. 50 f. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Bacharelado em Engenharia Química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2021.
- TOALDO, I. M. *et al.* Effect of grape seeds on the polyphenol bioactive content and elemental composition by ICP-MS of grape juices from *Vitis labrusca*. L. **Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 1-8, 2013.
- TOZETTO, Luciano Moro. Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (*Zingiber officinale*). 2017. 80 f. **Dissertação**

(Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017.

VENTURINI, F.W.G. *Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia*. 2 ed., p. 96-115, São Paulo: **Blücher**, 2016.

VOGEL, C. Avaliação da adição de pequenas frutas (Berries) na produção de cerveja artesanal: análise físico-química, sensorial, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal Fronteira Sul. 2017.

WANG, H.; FU, Z.; HAN, C. The medicinal values of culinary-medicinal royal sun mushroom (*Agaricus blazei* Murrill). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

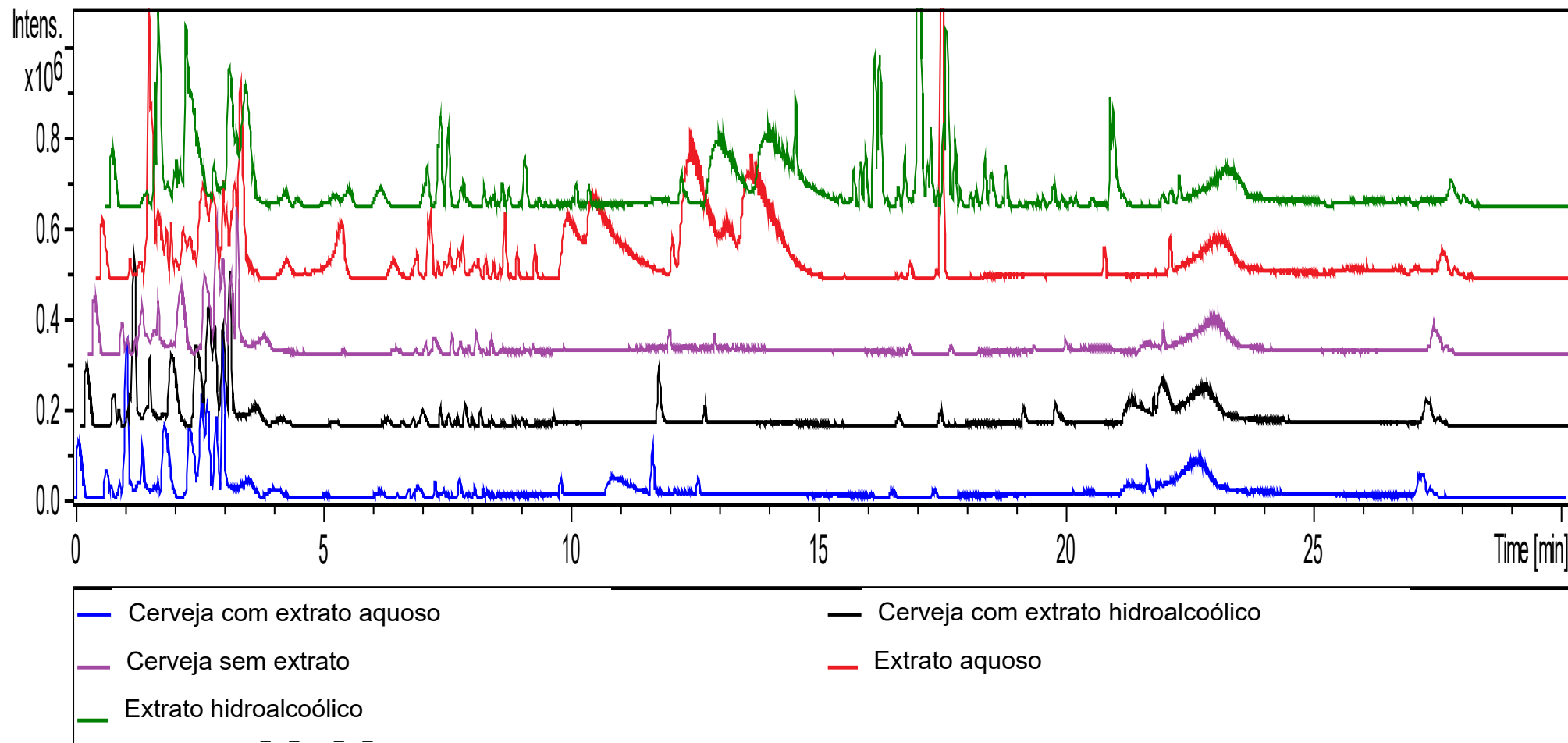
YU, C. *et al.* Inhibitory mechanisms of *Agaricus blazei* Murill on the growth of prostate cancer in vitro and in vivo. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 20, n. 10, p. 753-764, 2009.

ZHAI, F. *et al.* Phenolic compounds and antioxidant properties of wheat fermented with *Agaricus brasiliensis* and *Agaricus bisporus*, **FEMS Microbiology Letters**, Volume 368, Issue 1, January 2021

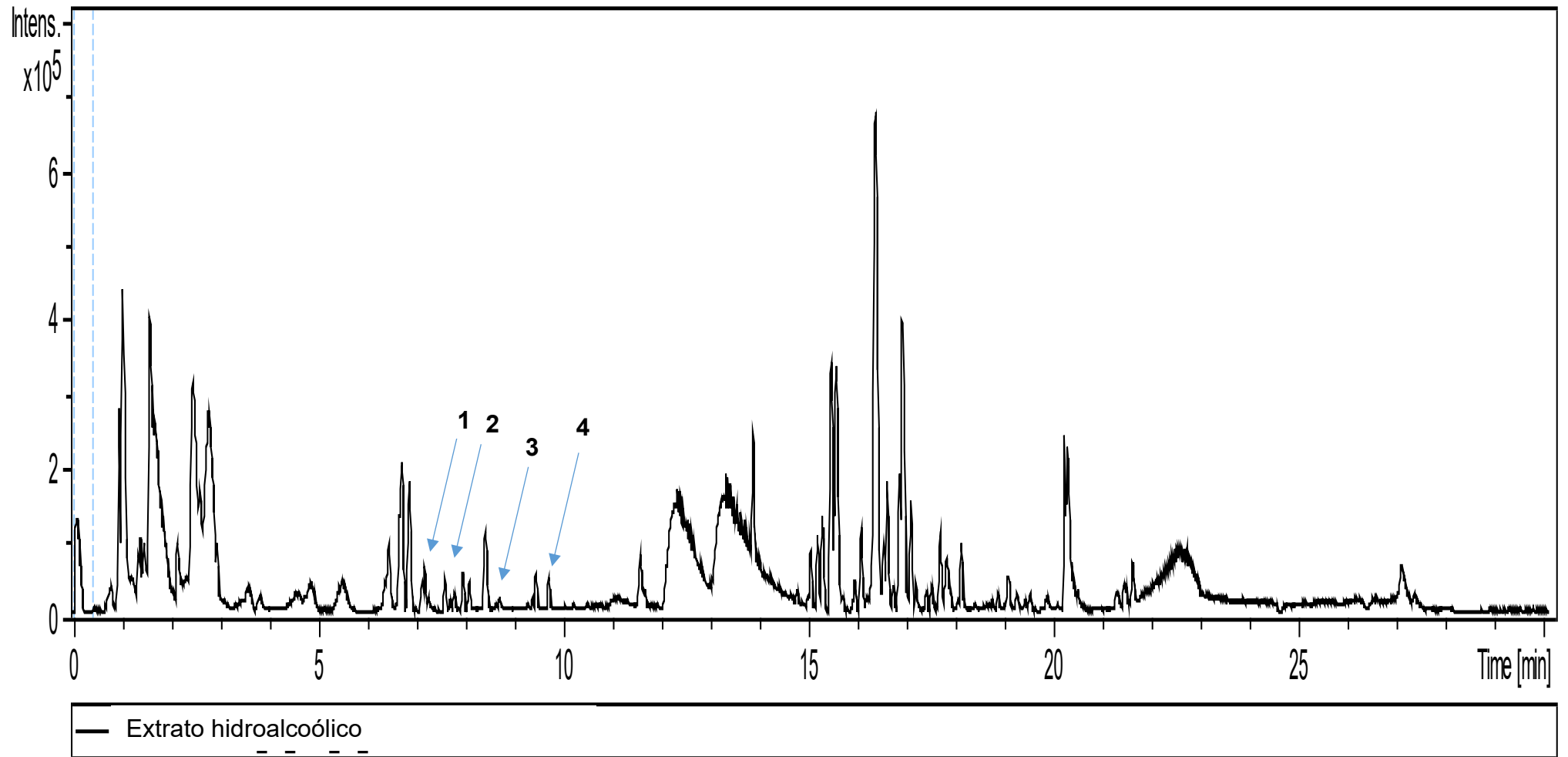
ZHAO, H. *et al.* Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers. **Food Chemistry**, 119(3), 1150–1158. 2010.

APÊNDICES

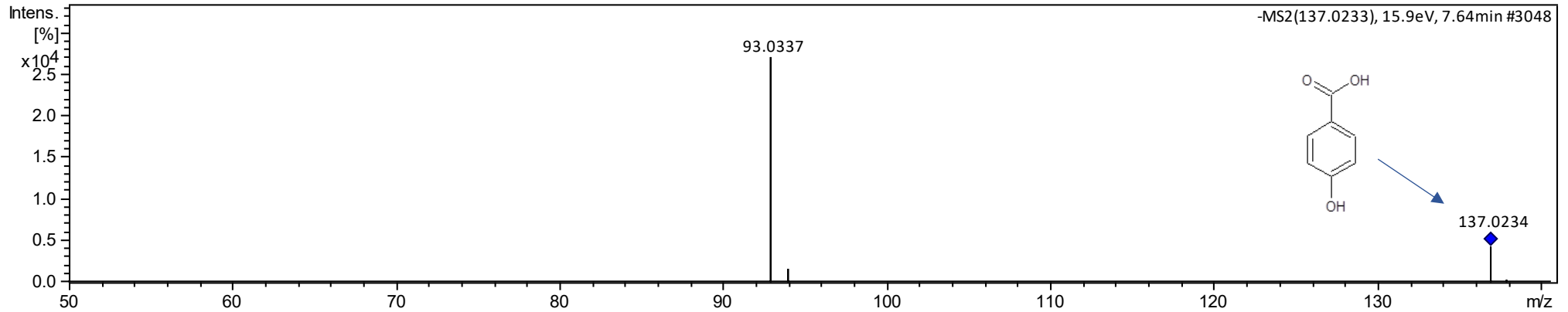
ANEXO 1. Sobreposição dos cromatogramas das amostras.



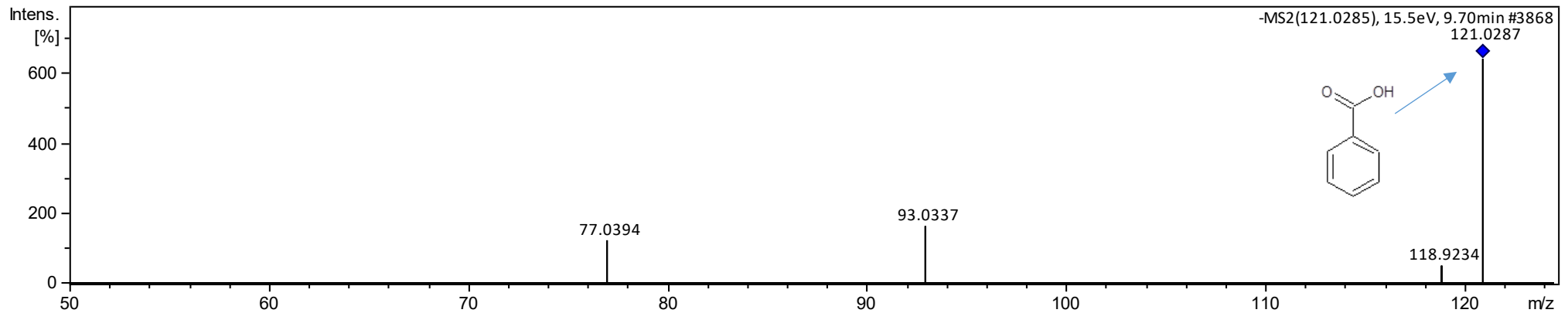
ANEXO 2. Cromatograma do Extrato Hidroalcoólico com picos identificados.



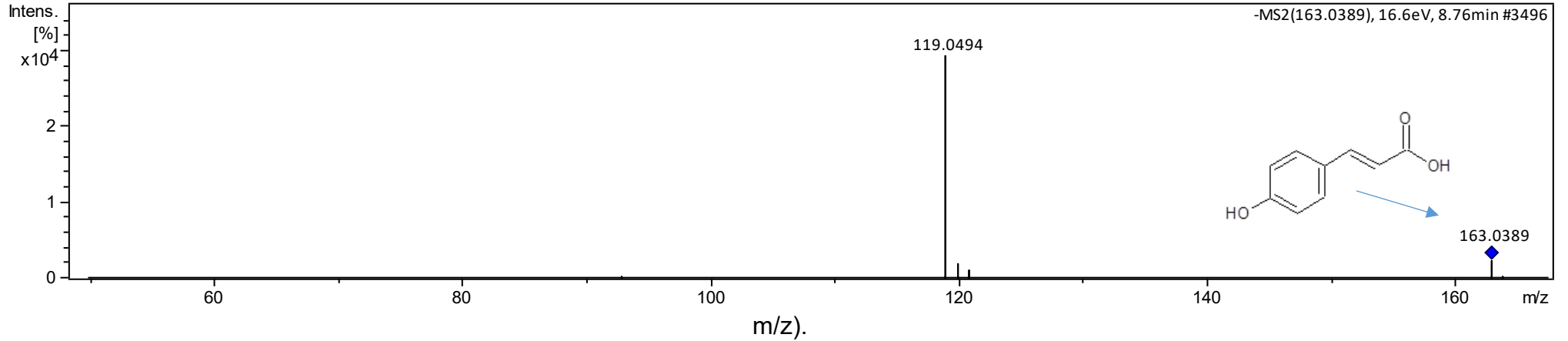
ANEXO 3. Composto 2 detectado em 7,64 minutos no extrato hidroalcolico correspondente ao ácido hidroxibenzoico (137,0234 m/z).



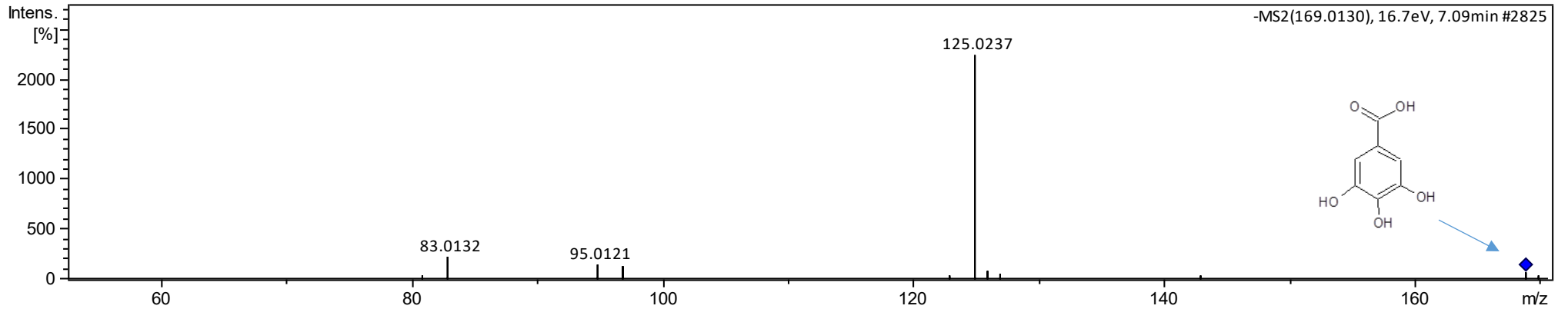
ANEXO 4. Composto 4 detectado em 9,70 minutos no extrato hidroalcolico correspondente ao ácido benzoico (121,0287 m/z).



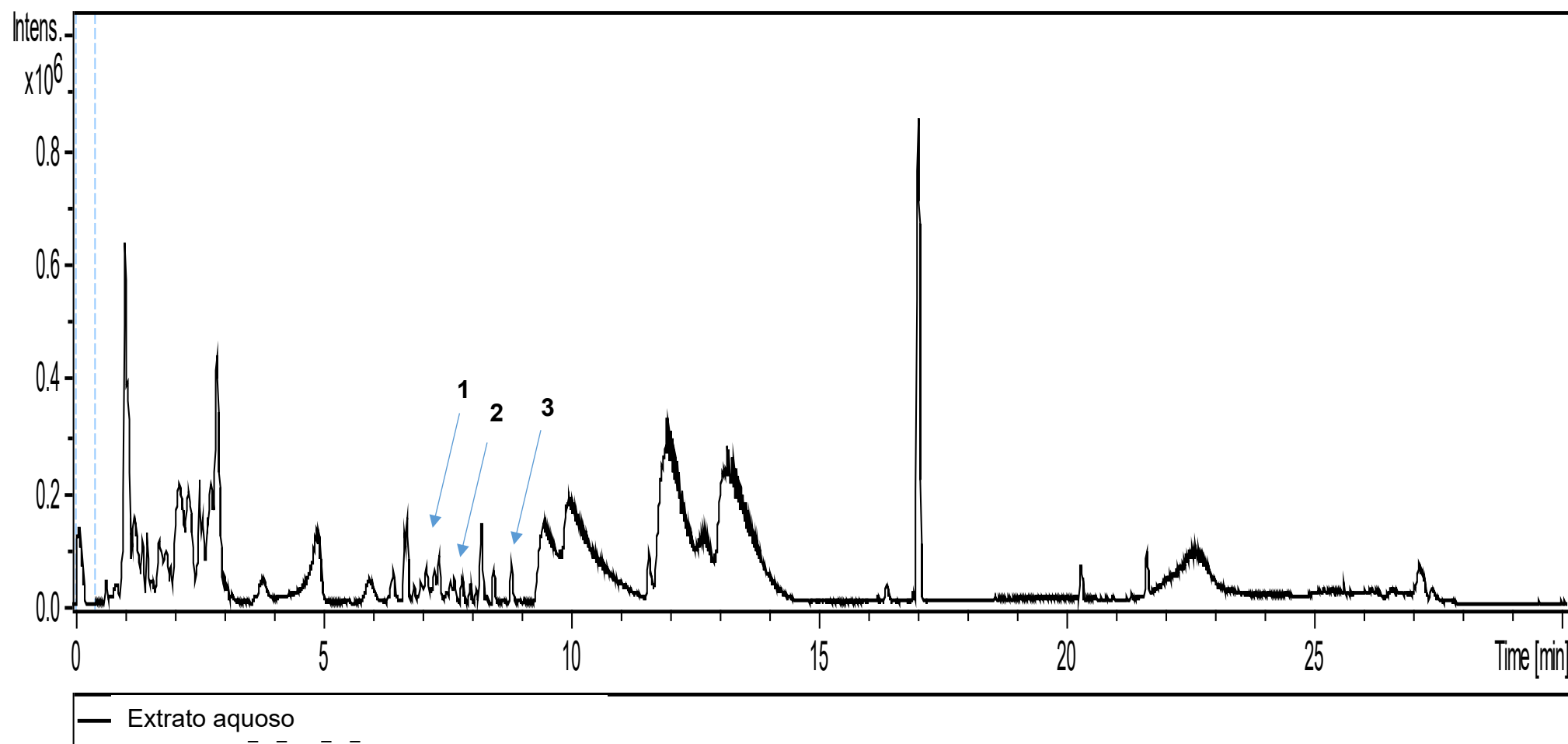
ANEXO 5. Composto 3 detectado em 8,76 minutos no extrato hidroalcolico correspondente ao ácido para-cumárico (163,0389



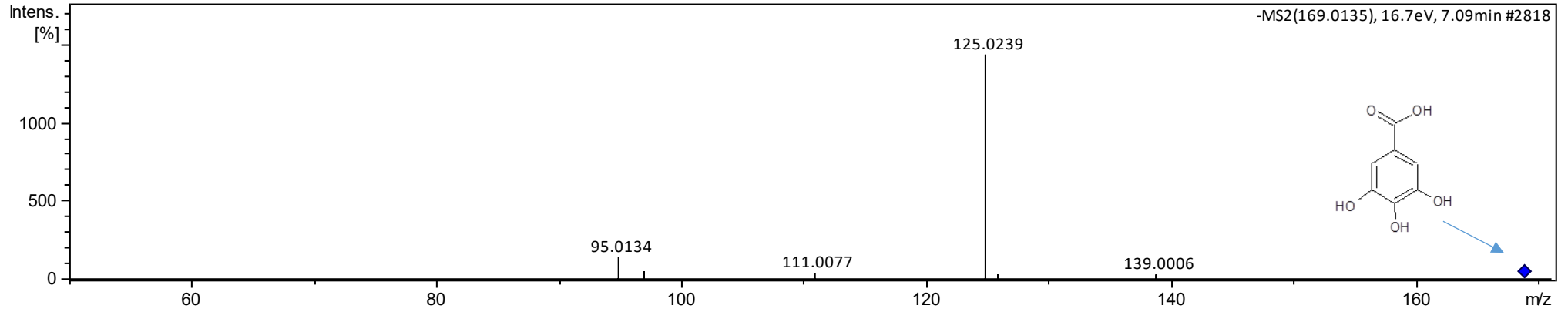
ANEXO 6. Composto 1 detectado em 7,09 minutos no extrato hidroalcolico correspondente ao ácido gálico (169,0130 m/z).



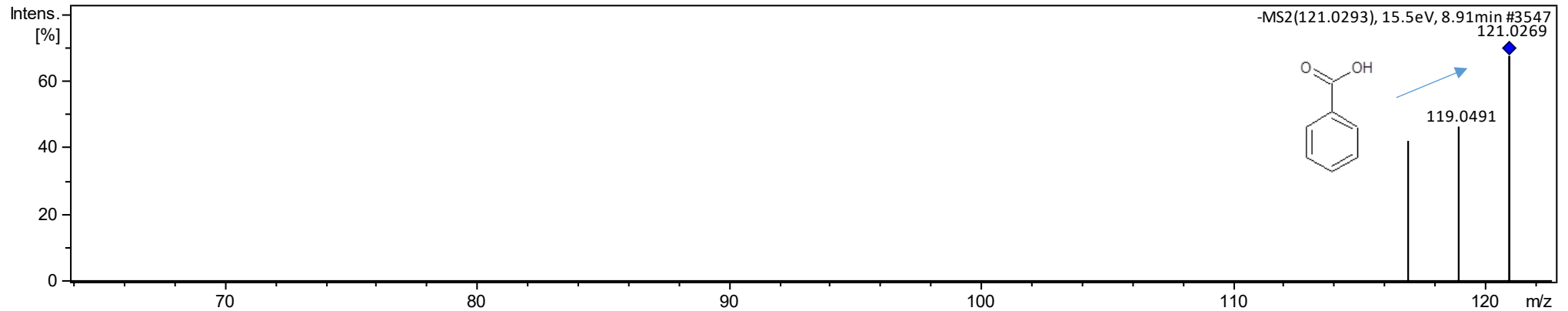
ANEXO 7. Cromatograma do Extrato Aquoso com picos identificados.



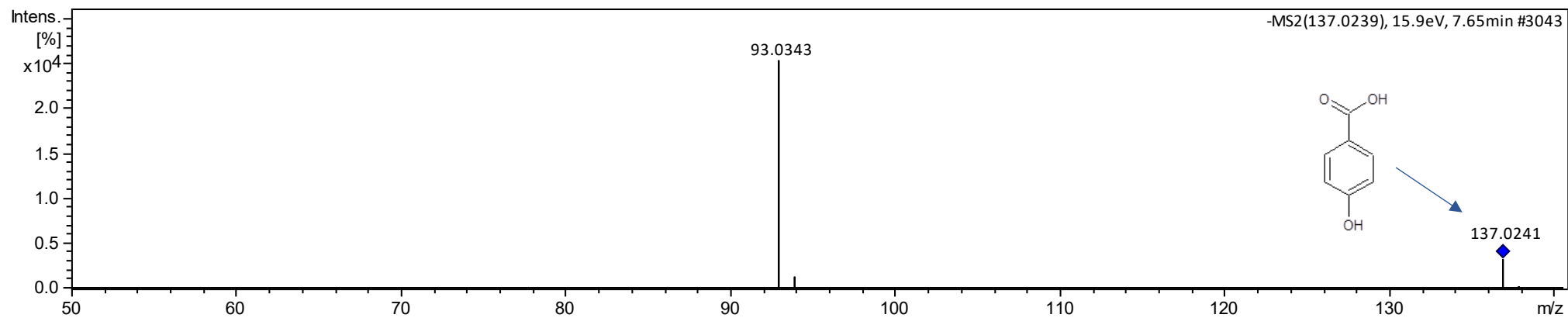
ANEXO 8. Composto 1 detectado no extrato aquoso em 7,09 minutos correspondente ao ácido gálico (169,0135 m/z).



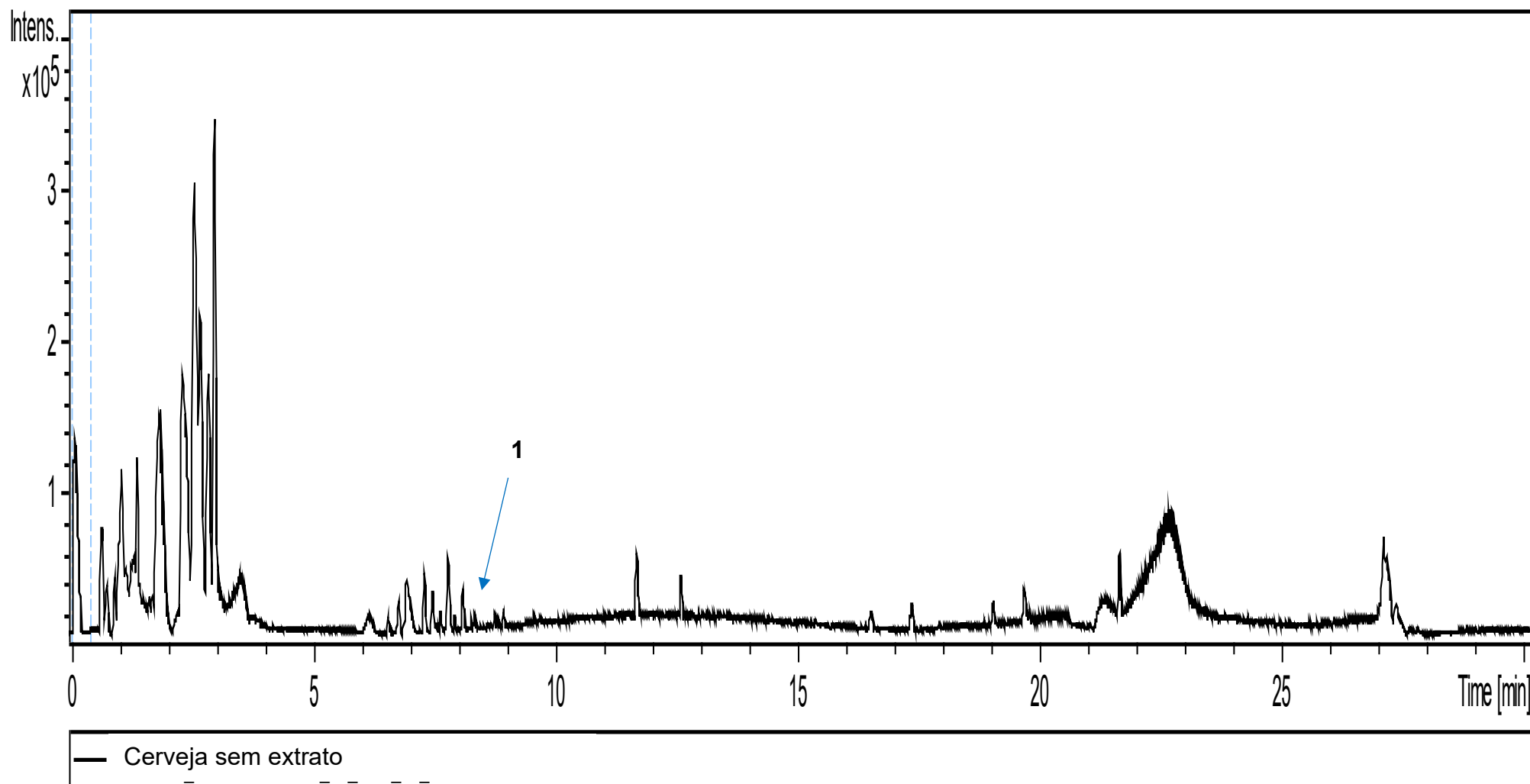
ANEXO 9. Composto 3 detectado no extrato aquoso em 8,91 minutos correspondente ao ácido benzoico (121,0269 m/z).



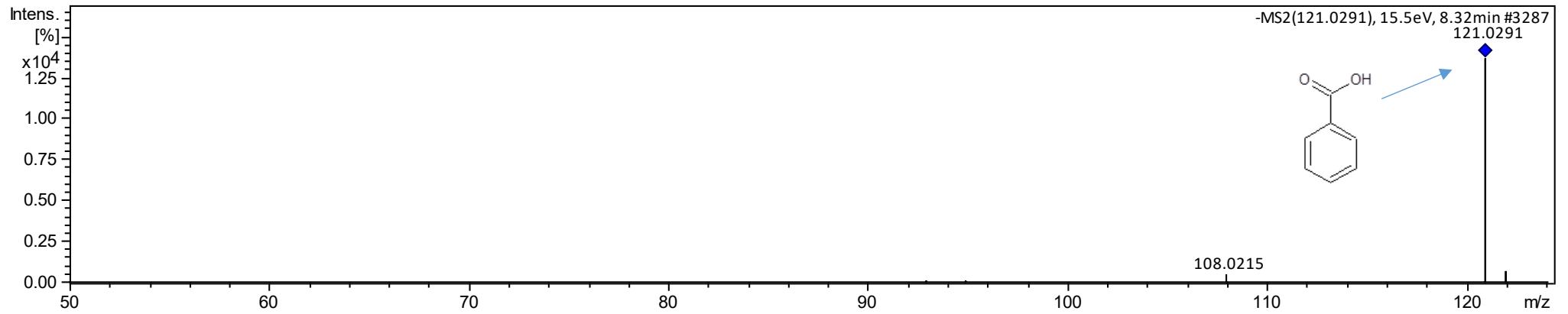
ANEXO 10. Composto 2 detectado no extrato aquoso em 7,65 minutos correspondente ao ácido hidroxibenzoico (137,0241 m/z).



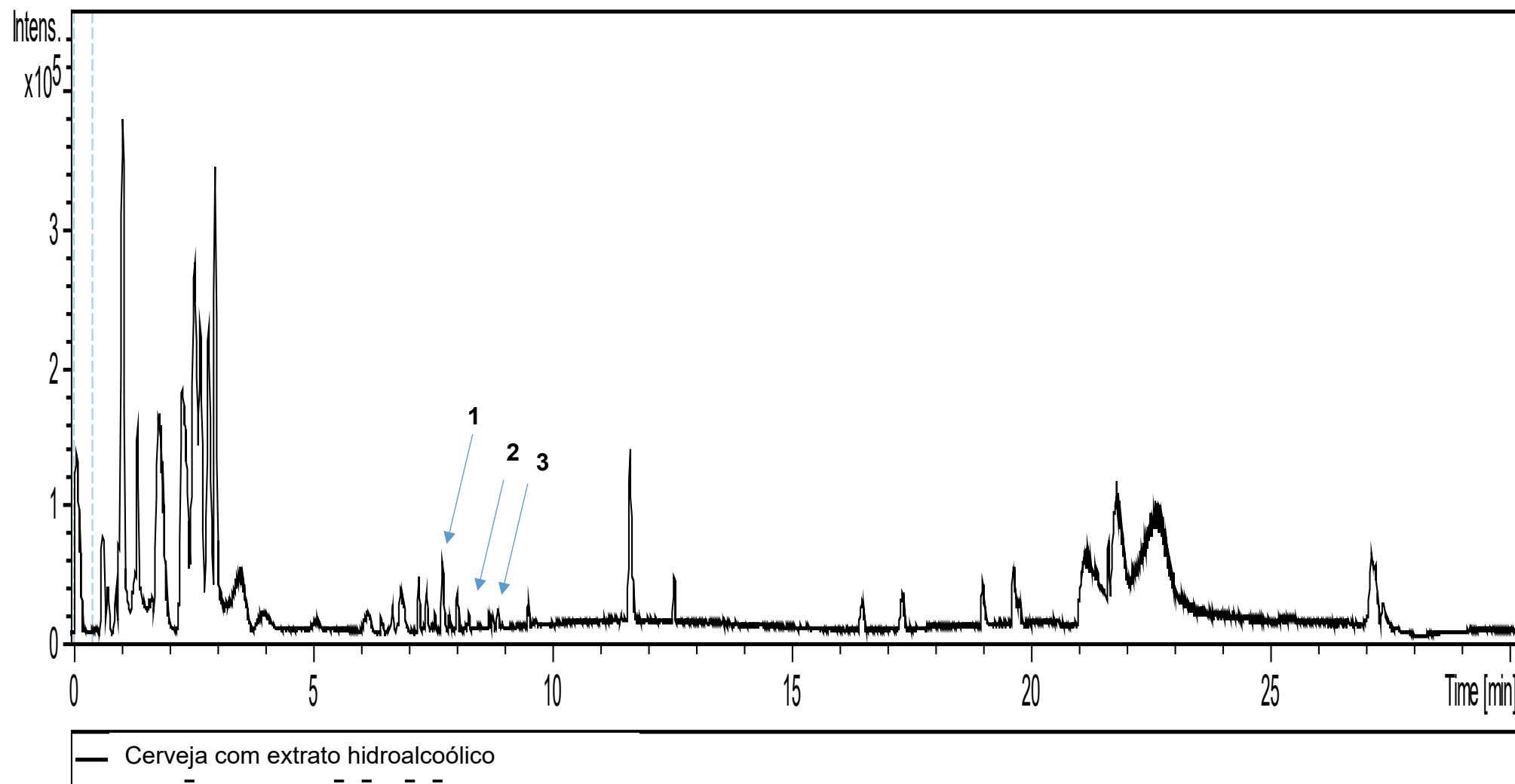
ANEXO 11. Cromatograma da cerveja sem extrato com pico identificado.



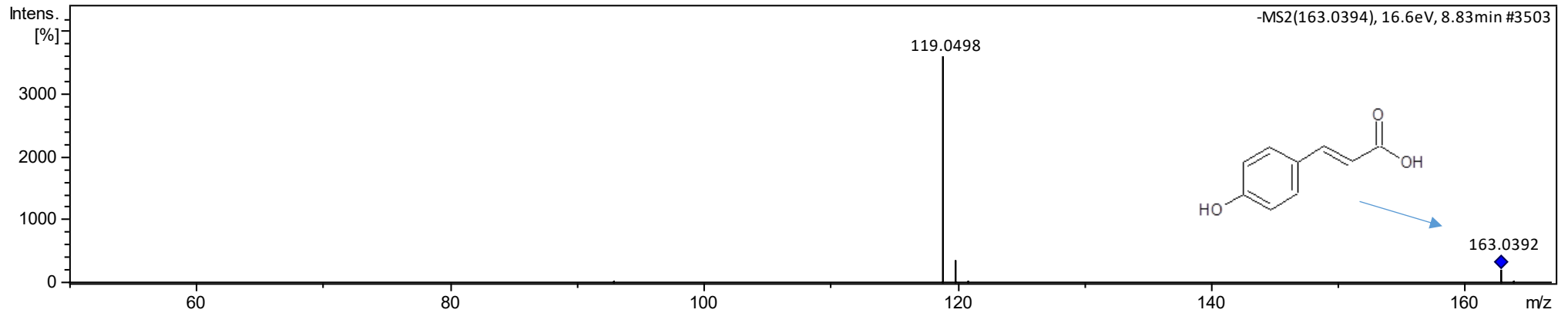
ANEXO 12. Composto 1 detectado na cerveja sem extrato em 8,32 minutos correspondente ao ácido benzoico (121,0921 m/z).



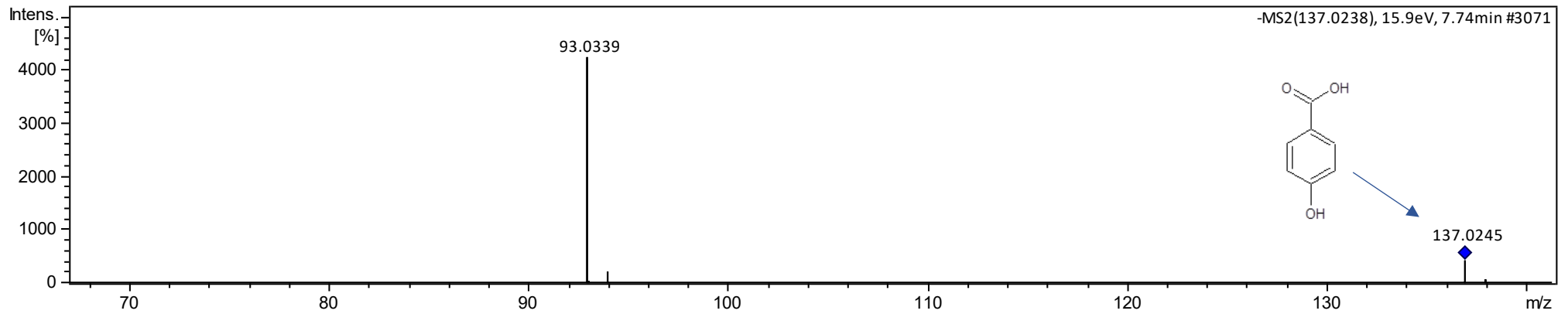
ANEXO 13. Cromatograma da cerveja com o extrato hidroalcoólico.



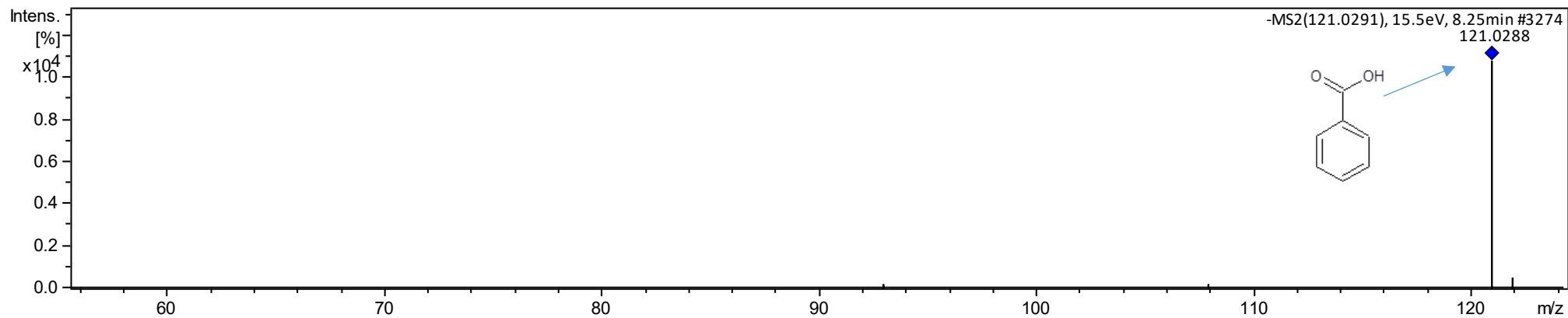
ANEXO 14. Composto 3 detectado na cerveja com o extrato hidroalcoólico em 8,83 minutos correspondente ao ácido paracumárico (163,0392 m/z).



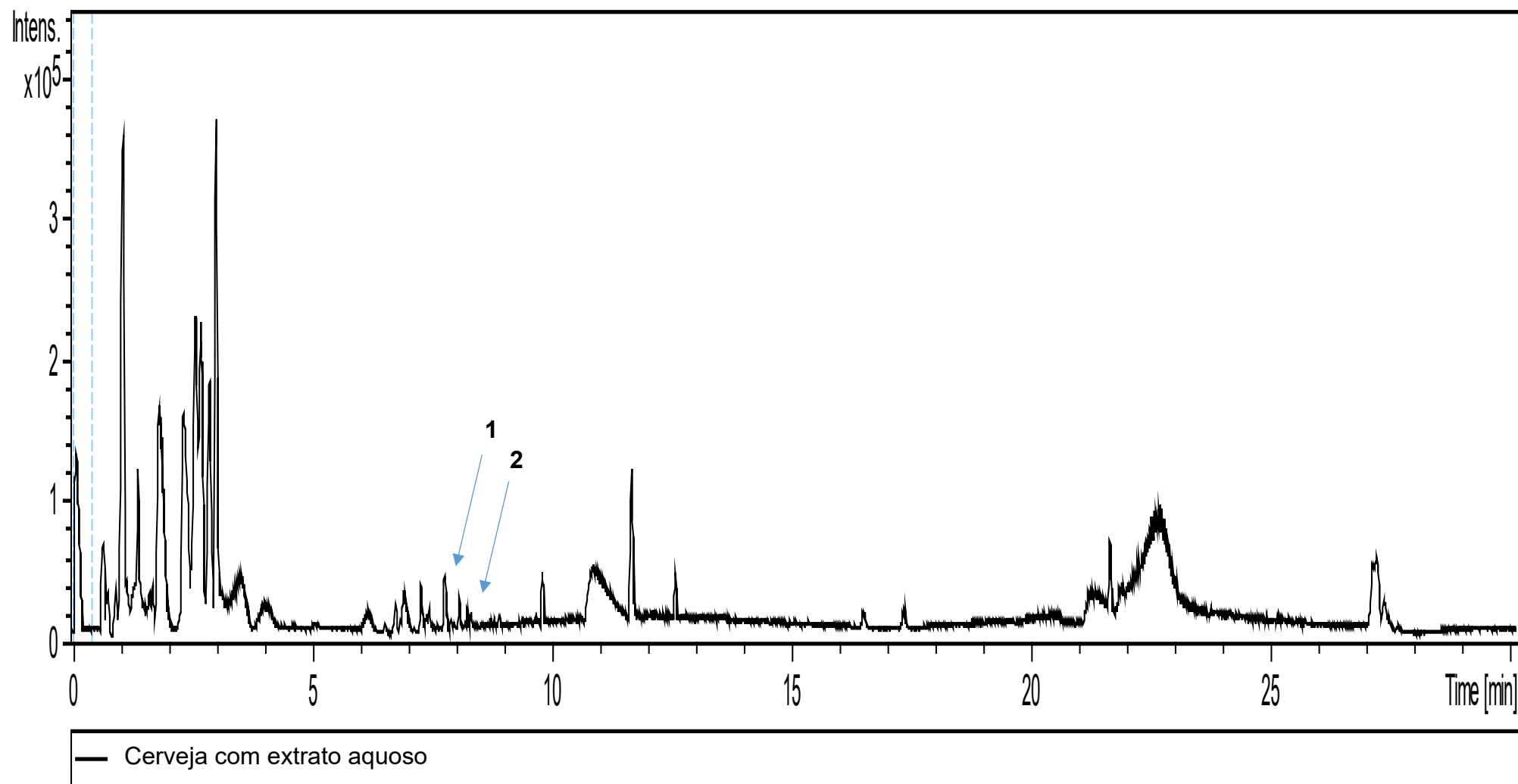
ANEXO 15. Composto 1 detectado na cerveja com o extrato hidroalcoólico em 7,74 minutos correspondente ao ácido hidroxibenzoico (137,0245 m/z).



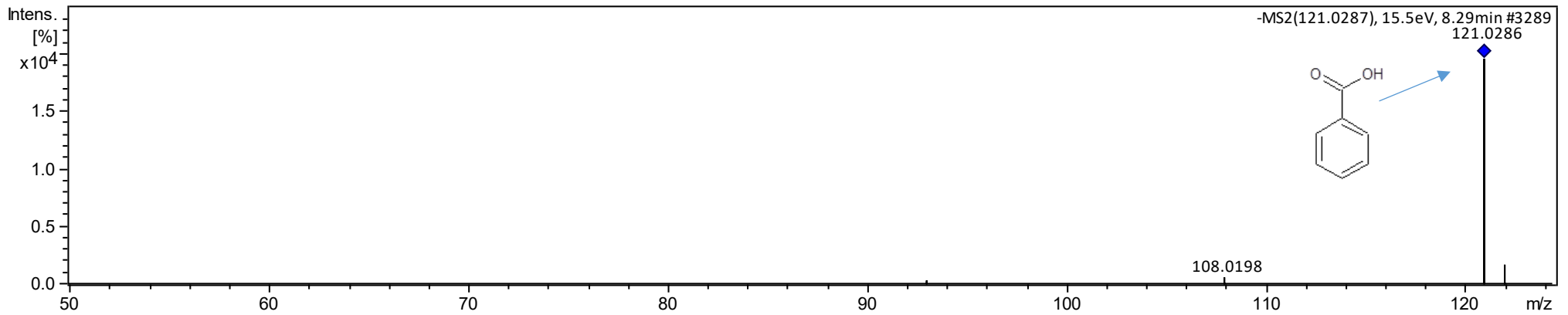
ANEXO 16. Composto 2 detectado na cerveja com o extrato hidroalcolico em 8,25 minutos correspondente ao ácido benzoico (121,0288 m/z).



ANEXO 17. Cromatograma da cerveja com o extrato aquoso e picos identificados.



ANEXO 18. Composto 2 detectado na cerveja com o extrato aquoso em 8,29 minutos correspondente ao ácido benzoico (121,0286 m/z).



ANEXO 19. Composto 1 detectado na cerveja com o extrato aquoso em 7,79 minutos correspondente ao ácido hidroxibenzoico (137,0227 m/z).

