



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

MATHEUS PEREIRA DE CARVALHO

ELABORAÇÃO DE CERVEJA ESTILO SAISON ADICIONADA DE JABUTICABA
SABARÁ (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E
CARACTERISTICA SENSORIAL

JOÃO PESSOA

2021

MATHEUS PEREIRA DE CARVALHO

**ELABORAÇÃO DE CERVEJA ESTILO SAISON ADICIONADA DE JABUTICABA SABARÁ
(*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E CARACTERÍSTICA
SENSORIAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR: PROFESSOR DR. MARCELO BARBOSA MUNIZ

JOÃO PESSOA
2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C331e Carvalho, Matheus Pereira de.

Elaboração de cerveja estilo saison adicionada de jaboticaba sabará (Myrciaria jaboticaba (Vell.) Berg) - capacidade antioxidante e característica sensorial / Matheus Pereira de Carvalho. - João Pessoa, 2021.
103 f. : il.

Orientação: Marcelo Barbosa Muniz.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Cervejas. 2. Fruit beer. 3. Voláteis. 4. Fenólicos. 5. Grupo focal. I. Muniz, Marcelo Barbosa. II. Título.

UFPB/BC

CDU 663.4(043)

MATHEUS PEREIRA DE CARVALHO

**ELABORAÇÃO DE CERVEJA ESTILO SAISON ADICIONADA DE JABUTICABA SABARÁ
(*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) – O EFEITO NA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E
SENSORIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Ciências e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Federal da Paraíba
em cumprimento aos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Ciências e Tecnologia
de Alimentos.

DATA: 31 de Agosto de 2021

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz – PPGCTA/CT/ UFPB/ João Pessoa -PB
Orientador



Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva – PPGCTA/CT/ UFPB/ João Pessoa – PB
Examinador interno



Profª. Drª. Ana Flávia Santos Coelho – DEQ/CT/ UFPB/ João Pessoa – PB
Examinador externo

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Paraíba, especialmente ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), seu corpo docente e funcionários.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio à pesquisa - Código de Financiamento 001.

Ao meu orientador prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz por me orientar, pela disponibilidade, paciência e companheirismo ao longo dessa jornada. Obrigado pela oportunidade e compreensão durante esses dois anos e meio.

Ao prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, membro da banca examinadora, pela paciência e contribuições para o aperfeiçoamento deste estudo.

A prof.^a Dr.^a Ana Flávia Santos Coelho, membro da banca examinadora, pela disponibilidade e contribuições para o aprimoramento da dissertação.

Às prof.^a Dr.^a Marta Suely Madruga e Graciele da Silva Campelo Borges e ao prof. Dr. Marcos dos Santos Lima por todo o suporte para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa e prof.^a Dr.^a Julice Dutra Lopes pela disponibilização de materiais e infraestrutura de laboratório.

A toda minha família meus pais Edinelia e Leandro Carvalho que fazem de tudo por mim, me apoiando e me amando incondicionalmente, meu irmão Leandrinho e minhas sobrinhas, Iohana e Sofia, que são uma luz nesse mundo. Eu não conseguiria sem eles ao meu lado. Amo vocês!

Aos meus amigos, Erika Suyane, Iury Rogério, Matheus Varela, Juliana Nogueira, Junior Dumont pelas risadas e apoio. Ao meu namorado Pedro Diniz por todo o suporte emocional e compreensão durante todo esse processo.

Aos meus amigos do PPGCTA que fiz durante essa jornada Erica Monção, Flavio Fernandes, Jayme Júnior pelos momentos de descontração e suporte.

Aos técnicos e responsáveis dos laboratórios, Leila, Sofacles Figueredo, Mercia Galvão e Lorena Lucena, pela paciência, disponibilidade e ajuda tão necessária ao decorrer de todo trabalho.

Enfim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista mesmo que não citado vocês foram de suma importância. Muito obrigado!

RESUMO

O crescimento na quantidade de micro cervejarias, assim como o substancial número de novos produtos são indicativos da popularidade e do potencial que este mercado tem de absorver novas receitas. A adição de fruta em cerveja é uma técnica secular, com o intuito de agregar novas características sensoriais ao produto. Dependendo da fruta pode-se adicionar compostos capazes de aumentar sua estabilidade e nutrientes interessantes ao consumidor. A jabuticaba é uma fruta nativa do Brasil conhecida pelo seu sabor doce agradável e alta concentração de compostos fenólicos em sua casca e sementes. O objetivo do seguinte estudo foi desenvolver e caracterizar uma cerveja estilo *saison* com adição de jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). Foram criadas quatro formulações com adição da fruta inteira em diferentes etapas do processo (fervura e fermentação) e concentração (15 e 30%). As cervejas se separaram em três grupos: cervejas com adição de jabuticaba durante a etapa de fervura (A e B) que são marcadas pela sua alta composição de compostos fenólicos e atividade antioxidante, os aromas γ e α -eudesmol e octanoato de etila ($p < 0,05$); as cervejas adicionadas de jabuticaba durante a fermentação (C e D), que se distinguem pelo seu maior teor alcoólico, concentração de procianidina B1 e os aromas álcool fenetílico, acetato de fenetíla e decanoato ($p < 0,05$); e a cerveja padrão (P) que se caracteriza pela presença de catequina, ácido succínico, amargor (IBU) e os compostos voláteis 9-hexadecanoato, 9-decanoato, hexanoato de etila. Durante a sensorial as cervejas com adição de jabuticaba foram descritas com aroma de folhas e cascas verdes, o sabor ácido, adstringente e herbal frutado. A preferida pelos julgadores foi a cerveja C. Esses resultados levam a acreditar que a adição de jabuticaba durante a fervura aumenta a concentração de compostos fenólicos e assim a capacidade antioxidante das cervejas.

Palavras-chave: *Fruit beer*, voláteis, fenólicos, grupo focal.

ABSTRACT

The growth in the number of microbreweries as well as beer related new products are the indicative of popularity and potential that this market has to absorb new revenues. The addition of fruit in beer is a centuries-old technique, with the purpose of adding new sensory characteristics to the product. The fruits used in this technique can add compounds capable of increasing beer's stability and add interesting nutrients for the consumer. Jabuticaba is a fruit native to Brazil known for its pleasant sweet taste and high concentration of phenolic compounds in its peel and seeds. The aim of the following study was to develop and characterize a saison-style beer with the addition of jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). Four formulations were created with the addition of whole jabuticaba berries at different stages of the process (boiling and fermentation) and concentration (15 and 30%). The beers were divided into three groups: beers with the addition of jabuticaba during a boiling step (A and B) which are marked by their high composition of phenolic compounds and antioxidant activity, the aromas γ and α -eudesmol and ethyl octanoate ($p < 0.05$); beers with jabuticaba added during fermentation (C and D), which are distinguished by their higher alcohol content, concentration of procyanidin B1 and the aromas of phenethyl alcohol, phenethyl acetate and decanoate ($p < 0.05$); and the standard beer (P) characterized for the presence of catechin, succinic acid, bitterness (IBU) and the volatile compounds 9-hexadecanoate, 9-decanoate, ethyl hexanoate. During focus group beers with addition of jabuticaba were described with aroma of green leaves and peels and acidic, astringent and fruity herbal taste. The one preferred by the judges was beer C. These results lead to believe that the addition of jabuticaba during the boil step increases the concentration of phenolic compounds, thus the antioxidant capacity of the beers.

Keywords: Fruit beer, volatiles, phenolics, focus group.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -Fluxograma de produção de cerveja.....	23
Figura 2- Rampa de mosturação.....	24
Figura 3 – Jabuticabas sendo higienizadas e congeladas.....	31
Figura 4- Fluxograma de produção da cerveja com jabuticaba	34
Figura 5- Lavagem do hop bag com jabuticaba.	36

ARTIGO

Figure 1. Ten most present volatiles compounds in jabuticaba beers.....	89
Figure 2. Principal component analysis (PCA) showing a) physicochemical parameters and b) volatiles compounds. X-axes represent the principal component one (PC1), while y-axes represent the principal component (PC2).....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características físico-químicas do fruto inteiro da jabuticaba 28

Tabela 2 - Formulação das cervejas de jabuticaba 32

ARTIGO

Table 1- Physicochemical parameters of jabuticaba beers.....62

Table 2. Organic acid sugars and phenolic compounds content in jabuticaba beers.....64

Table 3 – Antioxidant activity and total phenolic compounds (TPC) of the jabuticaba beers.....69

Table 4. Relative abundance (% of total area) of volatile compounds along with CAS, RI [Lit. = Literature (NIST National Institute of Standards and Technology, 2021) and Cal. = experiment] and chemical classification identified in jabuticaba beers.....71

Table 5. Most frequent words were used to describe jabuticaba beers during the focus group.....81

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2. OBJETIVO ESPECÍFICO	13
3. REVISÃO DA BIBLIOGRAFICA	14
3.1 MERCADO CERVEJEIRO	14
3.2 MATÉRIAS-PRIMAS	14
3.2.1 ÁGUA	15
3.2.2 MALTE	15
3.2.3 LÚPULO	17
3.2.4 LEVEDURAS	18
3.2.5 ADJUNTO	20
3.3 ESTILOS DE CERVEJAS	20
3.4 PERFIL QUÍMICO DE CERVEJA	22
3.5 PROCESSAMENTO DE CERVEJA	23
3.6 JABUTICABA (<i>MYRCIARIA JABOTICABA</i> (VELL.) BERG).....	26
3.7 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES.....	30
4. ABORDAGEM METODOLÓGICA	31
4.1 MATERIAIS	31
4.2 MÉTODOS.....	31
4.2.1 PROCESSAMENTO DAS JABUTICABAS	31
4.2.2 FORMULAÇÃO DA CERVEJA DE JABUTICABA (<i>SABARÁ MYRCIARIA JABOTICABA</i> (VELL.) BERG.)	32
4.2.3 PRODUÇÃO DA CERVEJA DE JABUTICABA.....	33
4.2.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DAS CERVEJAS PRODUZIDAS	37
4.2.5 COMPOSTO FENÓLICOS TOTAIS	37
4.2.6 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS, AÇÚCARES E ÁCIDOS ORGÂNICOS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA – CLAE 38	
4.2.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	39
4.2.8.1 MÉTODO DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES DPPH• (2,2-DIFENIL-1- PICRIL-HIDRAZILA)	39
4.2.8.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FÉRRICO (FRAP)	39
4.2.8.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA CAPACIDADE DE ABSORVER RADICAL OXIGÊNIO (ORAC)	39

4.2.8 PERFIL DE VOLÁTEIS	40
4.2.9 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....	41
4.2.10 ANÁLISE SENSORIAL – GRUPO FOCAL.....	41
4.2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	51
6. CONCLUSÕES GERAIS	92

1. INTRODUÇÃO

A definição de cerveja pode variar de acordo com a cultura ou legislação de um povo ou nação, Hornsey (2016) diz que cerveja pode ser definida como uma bebida alcoólica feita pela fermentação de extrato ricos em açúcar originado de vegetais amiláceos.

Na legislação brasileira a cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada maltada ou de extrato de malte, fervidos e adicionados de lúpulo ou extrato, onde parte do malte pode ser substituída por adjunto cervejeiro (BRASIL, 2019).

Cerveja ditas artesanais são produzidas por microcervejarias ou cervejeiros caseiros. Estes buscam a inovação através de nova interpretação de estilos tradicionais (BREWERS ASSOCIATION, 2019), estas cervejas possuem maior valor econômico e melhores características sensoriais incentivando um consumo de maneira apreciativa por seus consumidores.

O setor de microcervejarias vem crescendo exponencialmente no Brasil, sendo o que mais apresentou registro de produtos e um aumento de 30% no número de novas microcervejarias registradas no último ano (MAPA, 2019). O aumento de novos produtos no setor leva a necessidade de inovação e criatividade do cervejeiro para se diferenciar dos concorrentes, criando-se cada vez mais produtos únicos e um consumidor mais exigente.

Uma das características da produção de cerveja é a versatilidade nas suas matérias-primas resultando nos diversos estilos de cervejas produzidos atualmente. Uma das maneiras de inovar é a adição de novos ingredientes ricos em carboidratos (adjuntos) que propiciam uma maior quantidade de açúcares fermentescíveis juntamente com características sensoriais agradáveis, agregando valor e complexidade a cerveja e ao adjunto (DANIELS, 1998).

Os adjuntos cervejeiros podem ser os mais variados, grãos maltados ou não, xaropes, tubérculos, sucos e frutas. As frutas são usadas há séculos por cervejarias Belgas produtoras de estilos como Lambic e Gueuze que levam em sua formulação clássica cerejas e framboesas. As frutas são adicionadas durante a fermentação, o que agrega complexidade ao seu aroma e sabor (NARDINI; GARAGUSO, 2020).

Os aromas desenvolvidos pela cerveja provêm das características dos seus ingredientes; a torra malte, óleos essenciais do lúpulo, metabólicos da levedura e caráter dos adjuntos. Adjuntos como frutas agregam características do vegetal *in natura* (HOLT *et al.*, 2019). As leveduras de alta fermentação são especialistas na produção de compostos aromáticos, concedendo aromas que podem variar de frutas a temperos, aumentando assim a complexidade da cerveja.

Cervejas da escola belga se caracterizam por suas leveduras com alta produção de compostos aromáticos e a adição de adjuntos. O estilo saison se caracteriza sensorialmente por possuir aromas frutados, de tempero como pimenta do reino e baixo amargor (BREWERS ASSOCIATION, 2020). Por ser uma cerveja originalmente produzida com ingredientes encontrados durante a estação o estilo é capaz de absorver adjuntos variáveis como outros cereais e vegetais (BJCP, 2015).

A jabuticaba é uma fruta tipicamente brasileira. Seu cultivo é dispendioso devido ao tempo de maturação da planta, porém, é bastante consumida quando disponível, dados os seus atributos sensoriais. A jabuticaba é extremamente perecível quando atinge sua maturidade, sendo propensa a ataques de insetos e animais, fazendo que parte da sua produção seja descartada por não chegar ao comércio ou dificuldade na colheita (SALOMÃO *et al.*, 2018).

Outra característica da jabuticaba é o seu potencial funcional, sua grande quantidade de compostos fenólicos e antioxidantes vem sendo comprovadas em diversos estudos (DE ANDRADE NEVES *et al.*, 2018; DE SÁ *et al.*, 2014; HACKE *et al.*, 2016; MORALES *et al.*, 2016; NERI-NUMA *et al.*, 2018; SALOMÃO *et al.*, 2018), mostrando sua capacidade antioxidante, anticarcinogênica, de prevenir o desenvolvimento de diabetes tipo 2 e doenças cardíacas (DONADO-PESTANA *et al.*, 2018).

Atualmente o processamento da fruta é feito de maneira caseira ou em pequena escala para a produção de doces, polpas, geleia e fermentados. Sendo estes bem aceitos pelos consumidores, demonstrando seu potencial para a produção de produtos processados (NERI-NUMA *et al.*, 2018).

A adição de frutas durante a fermentação produz cervejas com maior capacidade antioxidante e características sensoriais singulares (DUCRUET *et al.*, 2017; KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019; NARDINI; GARAGUSO, 2020), porém a adição desse adjunto durante outras etapas do processo foram pouco estudadas, necessitando serem elucidadas para melhor compreensão dos diferentes efeitos do processamento sobre o adjunto.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar uma cerveja estilo *Saison* com adição de jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg).

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Elaborar quatro formulações de cerveja estilo *Saison* com diferentes concentrações de jabuticaba;
- Determinar as características físico-químicas das cervejas produzidas;
- Caracterizar aromas, açúcares, compostos fenólicos e ácidos orgânicos por cromatografia;
- Certificar a segurança microbiológica das cervejas produzidas;
- Analisar sensorialmente com painel treinado as cervejas.

3. REVISÃO DA BIBLIOGRAFICA

3.1 MERCADO CERVEJEIRO

O consumo mundial de cerveja, no ano de 2018, foi de aproximadamente 188.79 milhões de quilolitros, um aumento de 0,8% em relação ao ano anterior. Sendo o EUA, China e Brasil os maiores consumidores e produtores representando 20, 11 e 7% da produção mundial da bebida, respectivamente no ano de 2018. Porém apenas o Brasil apresentou um aumento na produção em relação a 2017 (KIRIN, 2019).

De acordo com a Associação Brasileira de Bebidas (Abrabe), microcervejarias caracterizam-se pela sua pequena produção, seus ingredientes diferenciados, maior quantidade de malte por hectolitro e por serem microindústrias. Esse tipo de indústria fornece ao consumidor um produto inovador e de alta qualidade (SEBRAE, 2016).

No ano de 2019, no Brasil, foram concedidos 9.950 registros de produtos para cerveja/chope atingindo a marca de 27.329 registros de cerveja válidos em todo país, fazendo a cerveja ser o produto mais registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2020).

Quanto ao número de estabelecimentos, ainda em 2019 houve a abertura de 320 novas microcervejarias, fechando o ano com um total de 1.209 microindústrias, sendo a maioria encontrada no Sul-Suldeste do país, porém mostrando grande avanço na região Nordeste em especial nos estados do Rio Grande do Norte, Alagoas e Bahia (MAPA, 2020).

Nos últimos vinte anos o crescimento médio anual do setor foi de 19,6%, quando levamos em conta apenas os últimos cinco anos essa taxa cresce para 36,4% evidenciando o potencial de crescimento desse mercado no Brasil (MAPA, 2020).

3.2 MATÉRIAS-PRIMAS

Os ingredientes utilizados para a produção de cerveja são os mesmos há séculos (água, malte, lúpulo, levedura e adjuntos), porém com o avanço da cultura cervejeira e pesquisas na área variações são criadas até hoje, seja pela adição de novos ingredientes (adjuntos, ervas e especiarias) até modificações genéticas dos mesmos (HORNSEY,

2016; LI, Q.; WANG; LIU, 2017). Cada ingrediente irá trazer características únicas para a cerveja. Sendo assim são determinantes para sua qualidade e perfil sensoriais.

3.2.1 Água

A cerveja é constituída por mais de 96% de água, sua qualidade e características minerais influenciam diretamente a cerveja. Por exemplo, geralmente água para a cervejaria deve possuir no mínimo 50 ppm de cálcio, para melhorar tanto a sacarificação como a fermentação e clarificação da cerveja (PALMER; KAMINSKI, 2013).

O controle do pH é diretamente relacionado a água e o tipo de malte utilizado na formulação da cerveja. Baixa alcalinidade é desejável para cervejas claras, já que quanto mais claro o malte menos ácido ele tende a ser, sendo necessário uma água mais neutra (PALMER; KAMINSKI, 2013; WOLFGANG, 2004).

Além do cálcio e a alcalinidade outros íons possuem efeitos direto na percepção do sabor da cerveja. A razão sulfato-cloreto afeta o equilíbrio amargor-dulçor e a percepção de corpo e secura da cerveja. Assim como sódio, magnésio, cobre e zinco são necessários para a fermentação em pequenas quantidades enquanto que em excesso produzem off-flavours (PALMER; KAMINSKI, 2013; STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004).

3.2.2 Malte

O malte é produzido com grãos submetidos ao processo de maltagem, que se resume a três etapas; reidratação, germinação e torra. Na cervejaria, o principal grão maltado é a cevada devido ao seu alto teor de enzimas e carboidratos, juntamente com a sua quantidade moderada de proteínas e lipídios fazem da cevada o grão ideal para a produção de cerveja (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; MALLET, 2014).

Também leva-se em consideração a sua fácil cultura, não ser usado como base na alimentação humana e sua caráter fisiológico já que sua casca é usada como filtro para o mosto durante processamento (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; WOLFGANG, 2004).

Os macros e micronutrientes presentes malte são levados em consideração como indicativos de qualidade. Não apenas pela sua concentração de carboidratos e enzimas mas também por minerais, ácidos graxos e aminoácidos necessários para o metabolismo das leveduras e a produção de compostos de aroma e sabor (SHOPSKA *et al.*, 2019; TANG; LI, 2017).

Na etapa de germinação o grão inicia o processo bioquímico para a formação de uma nova planta. Enzimas são ativadas degradando estruturas proteicas e carboidratos. Na indústria esse processo é controlado pela reidratação e desidratação do grão durante a maltagem visando obtenção de um malte com alto teor de enzimas e polissacarídeos (MALLET, 2014).

A torra do grão é realizada principalmente para encerrar a germinação pela remoção da umidade, e para o desenvolvimento de cor e sabor. Com o controle da temperatura, fluxo de ar e umidade pode-se criar uma grande variedade de maltes via a reação de Maillard, degradação de Strecker e caramelização formando melanoidinas, pirois e outros composto (MALLET, 2014; STEWART, 2016).

Durante o processo de torra algumas enzimas são destruídas devido as altas temperaturas assim quanto menos calor o grão é submetido maior sua atividade enzimática. A torra é dividida em duas partes; na primeira há a secagem do grão a uma temperatura branda, retirando a maior parte da umidade; na segunda a temperatura é aumentada assim o grão desenvolve cor e sabor. Seguindo esse processo há perda de enzimas é diminuída drasticamente (MALLET, 2014).

Os maltes torrados a baixas temperaturas (80-85°C) são chamados de maltes bases, estes são os mais utilizados na formulação de cervejas devido a sua maior atividade enzimática, dentre eles estão os tipos pilsen e pale ale (STEWART *et al.*, 2017; KUNZE, 2004).

Durante a maltagem é comum a formação de off-flavors como óxidos de nitrogênio, compostos sulfurosos e dimetil sulfeto (DMS). DMS concede a cerveja sabor de milho cozido, em pequenas quantidades é desejado em lagers clássicas, porém em excesso é tido como erro (MALLET, 2014).

Apesar do malte de cevada ser o mais utilizado outros grãos podem ser maltados e utilizados na produção de cerveja. O trigo maltado é o segundo mais utilizado devido ao seu maior teor de proteínas proporcionando a bebida melhor estabilidade da espuma e maior corpo (LI, M.; DU; ZHANG, 2020; STEWART, 2016).

Outros grãos não convencionais estão sendo utilizados para a produção de cerveja entre eles estão: arroz na Ásia, milho nas Américas e sorgo na África. Porém esses grãos possuem suas dificuldades tecnológicas. O trigo dificulta a filtragem do mosto, o processo de obtenção de malte de milho é oneroso sendo inviável para a indústria e o sorgo possui baixa concentração de β -amilase e aminoácidos livres (DABIJA *et al.*, 2021).

3.2.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma planta trepadeira dioica, onde apenas as flores femininas são utilizadas na indústria cervejeira, devido a sua maior quantidade de resinas e óleos essenciais de interesse da indústria (STEWART *et al.*, 2017). O lúpulo contém polifenóis, óleos essenciais e dois tipos de resinas, uma rígida e outra flexível; a resina flexível é a mais importante para o setor cervejeiro já que nela se encontram os α -ácidos (5-11%), β -ácidos (5-11%) e uma série de produtos polimerizados e oxidados (STEWART, 2016).

Os α -ácidos (humulonas) são responsáveis pelo sabor amargo da cerveja quando isomerizados, auxiliam na estabilidade da espuma e exerce função antibacteriana. Comercialmente os α -ácidos são usados como padrão de qualidade e caracterização do lúpulo. Quanto aos β -ácidos oferecem as mesmas características dos α -ácidos porém mais suaves (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; WOLFGANG, 2004).

Os α -ácidos são divididos em três compostos bastante similares; humulona, adhumolona e cohumulona. A última não é desejada já que está relacionada a diminuição da estabilidade da espuma. Porém pode compor de 15 -50% do total de α -ácidos dependendo da variedade e colheita do lúpulo (STEWART, 2016).

Os óleos essenciais na flor do lúpulo são um dos principais responsáveis pelo aroma da cerveja, muitos são voláteis e podem ser evaporados durante a fervura, por isso, lúpulos ricos nesses óleos são adicionados ao final dessa etapa ou durante a maturação (STEWART, 2016).

Nos óleos do lúpulo são encontrados mais de 300 componentes divididos entre hidrocarbonetos (50-80% dos óleos essenciais sendo os principais o terpeno e sesquiterpeno) e compostos contendo oxigênio como álcoois, ácidos, ésteres e compostos carbonílicos, (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004).

Os principais óleos essenciais responsáveis pelo aroma característico do lúpulo são; Mirceno (10-72% do óleo essencial do lúpulo) responsável pelo aroma floral, α -

humuleno (15-42%) que propiciam um aroma amadeirado, balsâmico; β -cariofileno (2,8 – 18%) dando aroma de pimenta preta e tempero.; linalol que apesar de pequenas quantidades tem um grande impacto no atribuindo um aroma cítrico e como tangerina (ABERL; COELHAN, 2012; STEWART, 2016)

Os compostos fenólicos (4-8%) presentes no lúpulo são divididos em ácidos fenólicos, flavonoides, catequinas e antocianinas que ajudam na estabilidade da cerveja já que agem como agentes antioxidante, porém em grandes quantidades podem aumentar a turbidez da cerveja (STEWART, 2016).

Os lúpulos são separados em três grupos; Aroma, *High-alfa* e *Dual- pupose*, esses são ricos em óleos essenciais, α -ácidos e ambos respectivamente. O amargor da cerveja é medido pela quantidade de α -ácidos isomerizados em unidade internacional de amargor (IBU) (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; STEWART, 2016).

3.2.4 Leveduras

Leveduras cervejeiras são divididas em dois grandes grupos as de alta fermentação (*Saccharomyces cerevisiae*) e de baixa fermentação (*Saccharomyces pastorianus*) resultando em cervejas do tipo *ale* ou *lager* respectivamente (KARABÍN *et al.*, 2018). Neste trabalho focou-se as leveduras de alta fermentação, já que são as usadas para a produção de cervejas estilo *saison*.

As leveduras de alta fermentação são, em sua maioria, relacionadas com a *Saccharomyces cerevisiae* que sofreram diversas hibridizações e mutações, resultando em uma gama de subtipos com características singulares, sendo hoje utilizadas amplamente na indústria cervejeira para propiciar caráter singular aos estilos da bebida (GALLONE *et al.*, 2018; KARABÍN *et al.*, 2018).

Durante a fermentação as leveduras usam como fonte de energia, quando na ausência de oxigênio, a hidrólise de glicose formando ácido pirúvico que por fim é convertido em etanol e CO₂. No início da fermentação, oxigênio deve ser suprido para que haja a multiplicação celular (LIVENS, 2016). Dos nutrientes necessários para seu crescimento e multiplicação no mosto destacam-se proteínas, minerais e carboidratos simples (LI, Q.; WANG; LIU, 2017).

Durante o metabolismo fermentativo proteínas presentes no mosto, derivadas do malte, são usadas como fonte de nitrogênio para garantir o crescimento celular (LIVENS, 2016). Diversos minerais são necessários para controle das funções metabólicas das

leveduras; o fósforo é necessário para a formação de ATP e proporciona a capacidade tamponante da levedura; enxofre é absorvido na forma inorgânica e em aminoácidos sulfurosos é um nutriente necessário para o crescimento celular, sendo secretado como dióxido de enxofre ao decorrer de toda fermentação (LI, Q.; WANG; LIU, 2017).

O dióxido de enxofre formado durante a fermentação tem aspecto positivo na estabilização do sabor da cerveja. Porém a formação de sulfetos voláteis em especial dimetilsulfeto (DMS) é negativo para o produto concedendo aroma de vegetais cozidos (KARABÍN *et al.*, 2018)

Outros minerais têm seu papel no metabolismo da levedura como potássio (regulador de pH, necessário para reações enzimáticas durante o metabolismo de carboidratos), sódio, magnésio (auxilia nas reações com fósforo), cálcio, ferro e zinco (síntese proteica) (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004)

O mosto contém grande variedade de açúcares fermentescíveis por leveduras cervejeiras. São esses glicose, sacarose, frutose, maltose e maltotriose, respectivamente, entretanto pode-se encontrar dextrinas e amido que não são fermentadas aumentando o dulçor e o corpo da cerveja. Outros açúcares também são encontrados dependendo da formulação do mosto como rafinose, meliobiose, lactose, isomaltose, isomaltotriose, esses podem ser fermentados ou não dependendo das características das leveduras (LI, Q.; WANG; LIU, 2017; LIVENS, 2016; WOLFGANG, 2004).

Durante a fermentação há a formação de diversos aromas alguns derivados das matérias-primas (lúpulo, malte e adjuntos) outros de compostos formados pelas leveduras.

As leveduras das cervejas de alta fermentação são especialmente versáteis nesse quesito. Dos compostos produzidos por essas leveduras os de maior importância são álcoois superiores, ésteres de acetato e etílicos (etil acetato, fenil etil acetato), aldeídos (acetaldeído), cetonas (diacetil), ácidos orgânicos (ácido acético), fenóis voláteis (4-vinylphenol, 4-vinilguaiacol) e compostos sulfurosos (sulfeto de hidrogênio e tióis) (GAMERO *et al.*, 2014; SHOPSKA *et al.*, 2019).

A levedura comercial escolhida para este projeto foi a BE-134® (*S. cerevisiae* var. *diastaticus*). Levedura de alta atenuação que produz caráter frutado, floral e fenólico com final seco. Gerando cervejas refrescantes ideais para cervejas estilo *Saison-belga* (FERMENTIS, 2018).

3.2.5 Adjunto

Segundo a lei de pureza alemã tudo aquilo que não for água, malte, lúpulo e levedura é tratado como adjunto. Porém para a maioria dos autores define os adjuntos como sendo ingredientes adicionados com o intuito de aumentar a quantidade de carboidratos no mosto (HARRISON; ALBANESE, 2017; LI, Q.; WANG; LIU, 2017; STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004).

Os adjuntos podem ser cereais maltados ou não usados durante a mostura visando a sacarificação do amido (arroz, milho, aveia, sorgo , etc.), xaropes de cereais (milho, cana) e frutas (sucos, xaropes, *in natura* ou processadas) (STEWART, 2016).

As vantagens do uso de adjuntos são diversas desde barateamento da produção a adição de características sensoriais específicas dadas pelo adjunto. Por exemplo a adição de milho promove o brilho e leveza a cerveja, enquanto que a adição de aveia aumenta o corpo e a turbidez (MALLET, 2014; WOLFGANG, 2004).

Frutas são adjuntos cervejeiros usados há séculos, porém não popularizados. podem ser adicionadas em diferentes etapas do processamento: durante a mostura (para frutas com alto teor de amido) fervura (minimizando riscos de contaminação e adicionando caramelização aos açúcares presentes na fruta) ou fermentação e maturação, afim de manter as características sensoriais naturais da fruta.

A adição de frutas durante a etapa de fervura pode propiciar a degradação e formação de compostos fenólicos, aumentando sua capacidade antioxidante (DUCRUET *et al.*, 2017). O mesmo já é bem evidenciado para a adição de frutas durante a fermentação/maturação em bebidas alcoólicas (GARAGUSO, 2020; ZAPATA *et al.*, 2019; DO, 2018; DUCRUET *et al.*, 2017; KIM; KUMAR; MORALES *et al.*, 2016; NARDINI).

3.3 ESTILOS DE CERVEJAS

Cervejas são classificadas em duas grandes famílias; ales (trapistas, saison, etc.) e lagers (pilsen, bocks, etc.) que são definidas pelo tipo de levedura utilizadas para a fermentação. Dentro destas duas famílias se enquadram mais de 100 tipos e subtipos de cerveja onde se varia dos ingredientes clássicos (água, malte, lúpulo e levedura) a adição de temperos e frutas.

Novas receitas de cervejas são desenvolvidas utilizando como base os estilos clássicos de cerveja, com adição de produtos inesperados, modificação no processamento da cerveja ou das matérias-primas.

A lager é a família das cervejas mais produzidas no mundo sendo os estilos american lager e a pilsen mais populares. São chamadas de cervejas de baixa fermentação pois suas leveduras (*Saccharomyces pastorianus*, *syn. Saccharomyces carlsbergensis*), durante a fermentação, tendem a ficar no fundo do fermentador e o processo ocorre a temperatura relativamente baixa entre 6 e 15 °C (HARRISON; ALBANESE, 2017; LI, Q.; WANG; LIU, 2017). Geralmente as características sensoriais da lager estão ligadas a matéria-prima como o dulçor do malte e o herbal do lúpulo.

As *ales* são fermentadas normalmente por *Saccharomyces cerevisiae* em temperaturas relativamente altas (15 - 28°C). Essas leveduras possuem a característica de se manterem no topo do tanque durante a fermentação, sendo assim, as *ales* são chamadas de cervejas de alta fermentação. Geralmente cervejas dessa família possuem mais compostos ésteres e secundários de sabor e aroma quando comparadas com as *lagers* (STEWART et al, 2017; KUNZE, 2004).

Dentro das *largers* e *ales* existem centenas de estilos já que a diversidade dos ingredientes, métodos de fermentação, microrganismos, processos e adjuntos resultam em novos tipos de cerveja. Dentre eles estão as *saisons*, que são *ales* belgas produzidas originalmente por trabalhadores do campo. Feitas com ingredientes encontrados na região durante a estação, são também conhecidas como *Farmhouse* (BJCP, 2015).

As *saison* são geralmente claras, refrescantes, moderadamente amarga, de médio teor alcoólico e final seco (BJCP, 2015). Normalmente, altamente carbonatada e suas leveduras expressam caráter frutado e condimentado. Porém estas cervejas possuem variações em relação ao teor alcoólico e cor.

Um subtipo que utiliza como base ambas as famílias são as *fruit beer*. São definidas pela a adição de fruta na formulação. Essa técnica é tradicionalmente utilizada por cervejarias belgas para a produção de estilos clássicos com cereja (*Kriek*) ou framboesa (*Framboise*) pela adição da fruta nos barris de maturação assim reiniciando a fermentação (HORNSEY, 2016; NARDINI; GARAGUSO, 2020).

A utilização de frutas na produção de cerveja vem aumentando juntamente com a cultura cervejeira no mundo. À medida que microcervejarias vão surgindo a elaboração de um produto utilizando matérias-primas regionais é inevitável, agregando valor ao adjunto e criando novos tipos de cerveja. A adição de frutas como Caqui (CHO *et al.*,

2018), *goji berry* (DUCRUET *et al.*, 2017), pêssegos, ameixas e laranjas ((NARDINI; GARAGUSO, 2020), são exemplos desse fenômeno.

3.4 PERFIL QUÍMICO DE CERVEJA

A cerveja contém milhares de compostos químicos e microelementos derivados da matéria-prima (malte, lúpulo, água, adjuntos e levedura) ou produzidos durante a fermentação. Sendo uma mistura complexa de 1000 a 2000 componentes, rica em macronutrientes (carboidratos, proteínas e gorduras), minerais (cálcio, magnésio, ferro, cobre, zinco) assim como vitaminas (B6, B7, B9 e B12) (MARTINEZ-GOMEZ; CABALLERO; BLANCO, 2020; OSORIO-PAZ; BRUNAUER; ALAVEZ, 2019).

Contendo em média 3.3-4.4% de carboidratos deste 75-80% dextrinas, 20-30% mono- e oligossacarídeos e 5-8% polissacarídeos não amiláceos. Os principais oligossacarídeos presentes na cerveja são rafinose, maltotetranose, maltotriose e maltose. Já os monossacarídeos depende da levedura e do estilo da cerveja (LI, M.; DU; ZHANG, 2020).

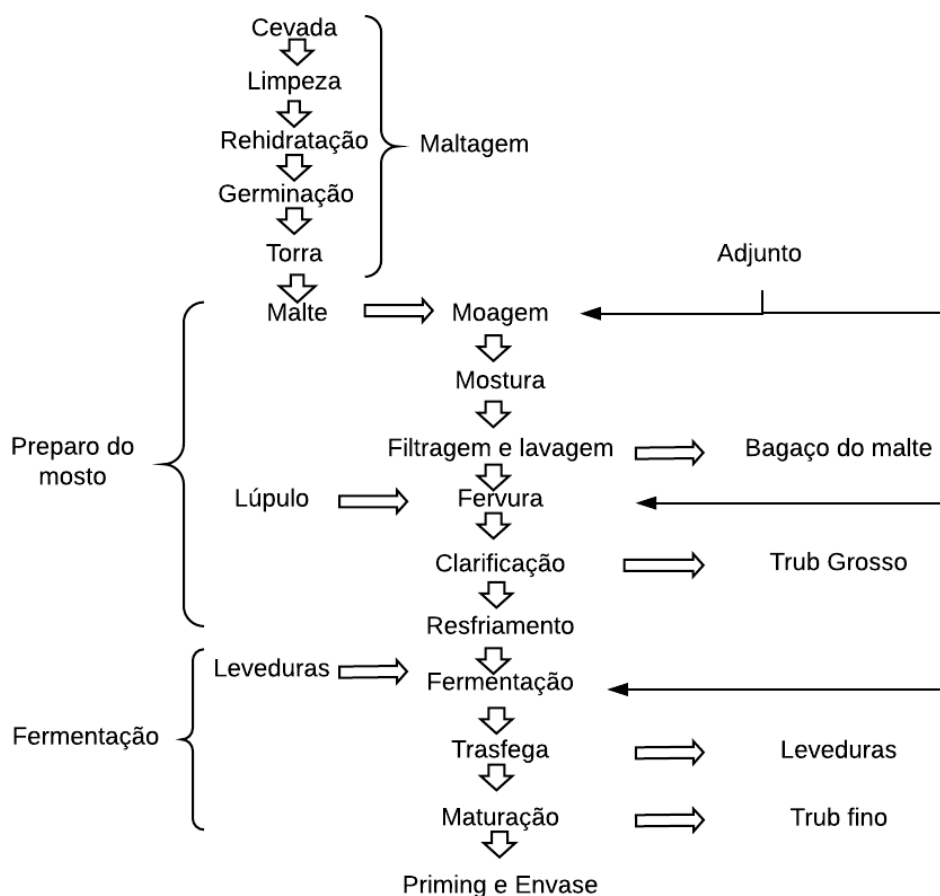
O álcool mais importante na cerveja é o etílico, afetando diretamente o corpo da cerveja aumenta a viscosidade e estabilidade da espuma, enquanto traz sabor maduro, além disso é precursor de alguns ésteres. Os álcoois superiores é outro grupo importante pois afetam diretamente as características sensoriais das cervejas de maneira positiva ou negativa (TANG; LI, 2017).

Podendo trazer harmonia com aromas agradáveis, porém em excesso causar sabor amargo desagradável. Sendo formado por diversos compostos (isobutanol, álcoois isoamilico e amilico) o mais importante é o álcool isoamilico constituindo 50% do total de álcoois superiores produzido durante a fermentação. Outro representante importante da família é álcool fenetílico que concede aroma de rosas (SHOPSKA *et al.*, 2019; TANG; LI, 2017).

3.5 PROCESSAMENTO DE CERVEJA

O processo para a produção de cerveja segue etapas padrões como exposto no fluxograma da Figura 1, tendo como principais etapas a moagem, mosturação, filtração, fervura, clarificação, resfriamento, fermentação, maturação e envase.

Figura 1 -Fluxograma de produção de cerveja.



Fonte: HARRISON; ALBANESE, 2017; STEWART et al, 2017.

A moagem tradicional é realizada com o auxílio de moinho de rolos. Esse é capaz de expor e triturar a porção amilar do grão mantendo a casca inteira, isto é necessário já que posteriormente a casca será usada como filtro (HARRISON; ALBANESE, 2017).

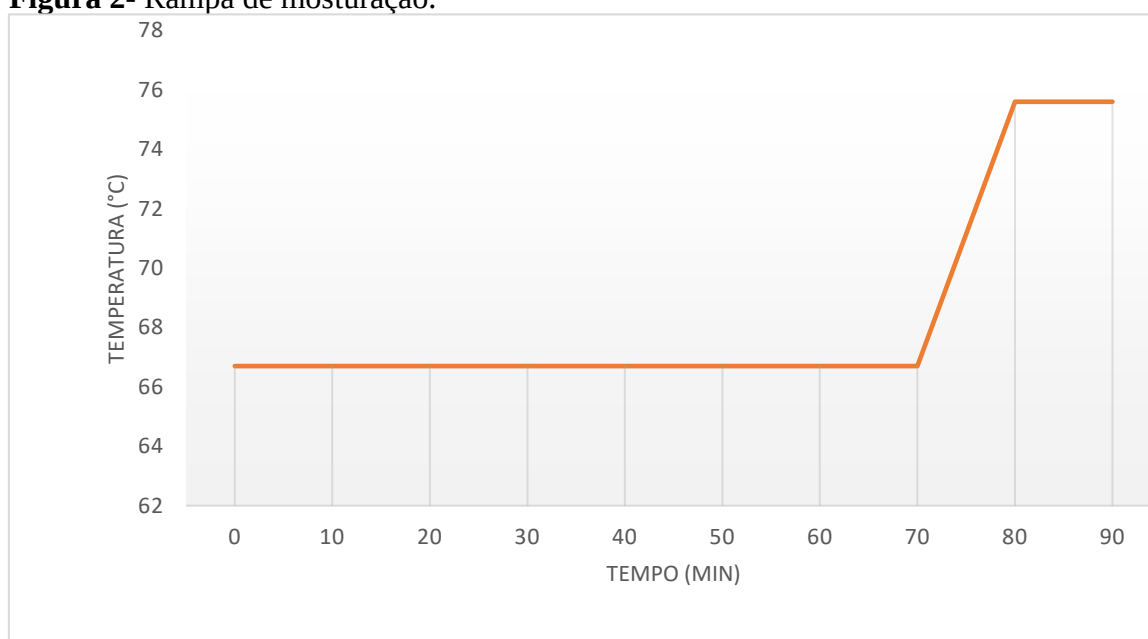
A moagem tem como objetivo aumentar a área superficial da porção amilar e auxiliará na conversão de amido em açúcares simples durante a mostura pelas enzimas

presentes no malte. Disformidades nessa etapa pode gerar problemas na mosturação como aumento do tempo ou sacarificação incompleta e/ou entupimento durante a filtração do mosto (HARRISON; ALBANESE, 2017).

A mosturação é a etapa onde há a sacarificação, transformação de amido em açúcares simples. Nessa etapa água morna é adicionada ao malte moído e adjuntos (amiláceos) em temperatura e tempo controlados para a melhor ação das enzimática. A temperatura é definida pelas características ótimas para a enzima α -amilases (60-65 °C), β -amilase (45-65,5 °C) e proteases (50-60 °C). Do mesmo modo o pH indicado para essa etapa é de 5.1-5.5. Para aumentar a velocidade de processamento e rendimento, assim como melhor formação de espuma e sabor da cerveja, menor formação de cor no mosto durante a fervura (PALMER; KAMINSKI, 2013; STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004).

Enquanto que o tempo, é determinado por quanto se quer daquele nutriente no mosto, ex. quanto mais tempo entre 50 e 55 °C maior a ação de proteólises e por sua vez menor a quantidade de proteínas diminuindo a formação e a persistência da espuma na cerveja. Por fim o mosto é submetido ao teste de iodo para verificar a ausência de amido e sua temperatura é elevada a 75°C para a desativação das enzimas (HARRISON; ALBANESE, 2017; STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004). Essa etapa é chamada de rampa de mosturação, já que se deve manter a temperatura do mosto por tempo determinado, como observado na Figura 2.

Figura 2- Rampa de mosturação.



A primeira filtração é realizada pelo bagaço do malte (cascas) moído que forma uma cama de grãos por onde o mosto é filtrado. Após a retirada do mosto primário (água da mosturação) é feita a lavagem da cama de grãos com água a 75°C afim de retirar açúcares ainda presentes no bagaço aumentando o rendimento do mosto (HARRISON; ALBANESE, 2017).

A fervura tem como objetivo esterilizar o mosto, extrair aromas e fixar o amargor do lúpulo, dissolver adjuntos, concentrar o mosto, desenvolver cor, inativar enzimas remanescentes, volatizar aromas indesejados, coagular proteínas indesejadas e clarificando o mosto. A fervura leva entre 60-120 minutos a 100°C tendo como ponto de controle a densidade desejada do mosto. Nesta etapa adiciona-se o lúpulo de amargor no início, para a isomerização de α -ácidos assim fixando o amargor, e o de aroma ao fim, para evitar a perda de voláteis (HARRISON; ALBANESE, 2017).

Durante a fervura forma-se um coagulado de impurezas (proteínas, resinas, taninos e bagaço do lúpulo) chamado de *trub grosso*, para a retirada dessa impureza se faz o *whirlpool* onde cria-se um vortéx no mosto juntando o *trub grosso* no centro da dorna que será descartado (clarificação).

Após a clarificação a densidade é aferida, caso necessário ajustá-la, o mosto é diluído ou concentrado para atingir a densidade pré-fervura recomendada do estilo. Em seguida o mosto é resfriamento o mais rápido possível para evitar contaminação e produção de aromas indesejados. A temperatura é ajustada para a fermentação e se adiciona a levedura (STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004).

Na fermentação o mosto deve estar aerado para a inoculação da levedura, durando de 3-10 dias. Nesse primeiro momento o microrganismo necessita do oxigênio para a multiplicação e crescimento celular (STEWART, 2016).

À medida que o oxigênio cessa a levedura entrará em sua via anaeróbica metabolizando os nutrientes presentes no mosto formando etanol e CO₂, como principais produtos, e outros compostos voláteis; álcoois superiores (aminoácidos), ésteres (álcoois superiores + enzimas) e compostos sulfurosos como sulfeto de hidrogênio, dimetilsulfeto (DMS), dióxido de enxofre e tióis, que em quantidades razoáveis são essenciais para as características aromáticas da cerveja. Também são formados compostos carbonílicos (aldeídos) e diacetil que quando em grandes quantidades são considerados *off-flavors* (LIVENS, 2016; STEWART et al, 2017).

Desta etapa em diante deve-se evitar ao máximo a exposição da cerveja ao oxigênio, para não ocorrer oxidação e a produção de compostos indesejáveis relacionados a multiplicação celular das leveduras.

Para a clarificação da cerveja é realizada uma filtração/trasfega, após a fermentação, para minimizar o número de células de leveduras e sujidades provindas do mosto. Para a trasfega primeiramente a temperatura é ajustada abaixo da de fermentação, afim de sedimentar as leveduras. Em seguida a cerveja é transferida para o tanque de maturação. A massa de levedura retirada é lavada e reaproveitada para a produção posterior (HARRISON; ALBANESE, 2017; SHOPSKA *et al.*, 2019).

A maturação tem como objetivo aperfeiçoar as características sensoriais da cerveja, a duração é determinada pelo estilo de cerveja com temperaturas variando entre 0 e 15 °C. Nesta etapa ocorre a clarificação pela sedimentação das células da levedura, o aumento da concentração de gás carbônico, melhoramento de sabores e aromas (pela estabilização de ésteres e álcoois superiores), diminuição das concentrações de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico (BEKATOROU, 2016; HARRISON; ALBANESE, 2017; STEWART, 2016).

A cerveja é armazenada e carbonatada em garrafas (vidro), latas (alumínio) ou barril (alumínio e aço inoxidável), ajustado a sua concentração de CO₂ para o estilo. As embalagens devem estar higienizadas e integras para evitar contaminação sendo transferida sem incorporação de ar para evitar oxidação, com mínima perda de CO₂ e sem excesso de espuma (STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004)

Para grande parte das cervejas artesanais a carbonatação é feita por refermentação na garrafa, processo chamado *priming*, no qual se adiciona uma quantidade previamente calculada de carboidratos simples na garrafa que é fechada e armazenada em temperatura de fermentação por cinco dias, produzindo assim CO₂. Este processo pode aumentar o teor alcoólico do produto. Em seguida as garrafas são pasteurizadas e armazenadas (STEWART, 2016; WOLFGANG, 2004).

3.6 JABUTICABA (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg)

A jabuticabeira é uma planta nativa do Brasil mais comumente encontrada no Sul e Sudeste, porém pode-se achar pequenas produções caseiras se estendendo por todo território nacional. O termo jabuticaba engloba várias espécies, contudo ainda não há um consenso quanto ao número exato e sua classificação botânica, a variedade mais comum

e por sua vez mais cultivada é a Jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), suas frutas são do tipo baga, subglobuloso, de cor escura entre o roxo e preto e sua casca frágil quando madura. A polpa é branca e gelatinosa, muito doce tendo em média 14°Brix de sólidos solúveis (LIMA, A. *et al.*, 2008; MORALES *et al.*, 2016; SALOMÃO *et al.*, 2018).

Apesar das suas características sensoriais agradáveis e sua grande capacidade de produção por planta (média 200Kg/ano) não há muitos produtores em grande escala de jabuticaba, devido ao período de amadurecimento da planta (oito anos) e sua baixa produção nos primeiros anos. Porém mesmo assim em 2014 cerca de 3,35 toneladas da fruta foram comercializadas no Brasil e provavelmente esses números sejam ainda maiores, já que muitos dos produtores familiares não são contabilizados pelas agências de controle oficiais. Além disso uma parte significativa da produção é perdida devido à dificuldade na colheita, grande perecibilidade da fruta e a ataques de insetos e pássaros sendo necessário o processamento para garantir a preservação (SALOMÃO *et al.*, 2018).

Na Tabela 1 estão presentes os principais componentes e características físico-químicas da jabuticaba.

Tabela 1- Características físico-químicas do fruto inteiro da jabuticaba

Características físico-químicas	
Extrato seco (/100g de fruta)	0,42 g
Cinzas (/100g de fruta)	3,82 g
Fibras Solúveis (/100g de fruta)	2,23 g
Fibras insolúveis (/100g de fruta)	16,63 g
Extrato não nitrogenado (/100g de fruta)	75,97 g
SST (°Brix)	9,1 - 17,9
Acidez total (ácido cítrico/100g de fruta)	1,41 g
pH	3,55
Polifenóis % (m/m)	8,51 g
Açúcares redutores %	40,21 g
Frutose % (m/m seca)	32,96 g
Glucose % (m/m seca)	26,4 g
Sacarose % (m/m seca)	11,69 g
Minerais (Recomendação de ingestão diária)	
Ca	7,1%
K	59,8%
Mg	33,3%
Na	3,1%
P	9,6%
Cu	31%
Mn	25,4%
Fe	18,5%

Fonte: LIMA, A. *et al.*, 2008; LIMA, A. DE J. B. *et al.*, 2011; SALOMÃO *et al.*, 2018

A jabuticaba é considerada fonte de fibras, vitamina C, minerais, compostos fenólicos, e carboidrato. A polpa da fruta é rica em frutose, glicose, sacarose, potássio e minerais (Fe⁺⁺, Cu⁺⁺ e Mg). Já a casca consiste de fibras solúveis e insolúveis (pectina),

elagitaninos, β -caroteno, ácidos fenólicos (gálico, elágico e ácido trans-cinâmico) e flavonoides (rutina, miricetina, quercetina e antocianinas) sendo os elagitaninos e galotaninos os principais responsáveis pela capacidade antioxidante da fruta (DONADO-PESTANA *et al.*, 2018; NERI-NUMA *et al.*, 2018; SALOMÃO *et al.*, 2018).

Uma das características mais atraentes da jabuticaba é a sua capacidade antioxidante e seu potencial funcional. Diversos estudos *in vitro* e *in vivo* comprovam a sua capacidade antioxidante, mesmo quando submetida a fermentação especialmente em relação casca, juntamente com suas possíveis funcionalidades como a redução de stress oxidativo e auxiliar no perfil lipídico em ratos diabéticos, capacidade anti-inflamatória e proteção contra doenças cardíacas. (DE ANDRADE NEVES *et al.*, 2018; DE SÁ *et al.*, 2014; HACKE *et al.*, 2016; MORALES *et al.*, 2016; NERI-NUMA *et al.*, 2018; SALOMÃO *et al.*, 2018).

Dos compostos fenólicos encontrados na jabuticaba Inada *et al.* (2015) identificou e quantificou onze compostos na fruta de jabuticaba sendo destes três derivados do ácido hidroxibenzoico (gálico, 3,4-dihidroxidobenzoico e ácido elágico), dois derivados de ácido hidroxicinâmico (m-cumárico e ácido trans-cinâmico), quatro flavonóis (rutina, miricetina e quercetina) e dois antocianinas (cianidina-3-O-glicóido e delphinidina-O-glicósido). Enquanto que De Andrade Neves *et al.* (2018) extraiu e identificou 49 compostos da casca da jabuticaba sendo desses 17 flavonoides derivados da quercetina, 3 flavonoides derivados da miricetina, 18 do ácido elágico, e 11 do ácido 3-O-metilelágico.

Inada *et al.* (2015) observou que quantidade total de fenólicos na jabuticaba em média de 815mg/100g de fruta, destes 56% solúveis e 44% insolúveis sendo os insolúveis ligados a parede celular. Enquanto Wu *et al.* (2012) reportou um concentração de 868mg/100 g de fruta.

A capacidade antioxidante da jabuticaba está relacionada aos seus compostos fenólicos em especial as antocianinas e taninos. Na fruta processada: fermentados, sucos, doces e farinhas observou-se altas capacidades antioxidantes, em especial quando usa-se a casca e as sementes (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; DE ANDRADE NEVES *et al.*, 2018; DE SÁ *et al.*, 2014; INADA *et al.*, 2018, 2020).

3.7 COMPOSTOS ANTIOXIDANTES

Radicais livres são moléculas orgânicas ou inorgânicas instáveis capazes de capturar elétrons desestabilizando moléculas e iniciando a reação de oxidação. Esta pode ocorrer em proteínas, lipídios, carboidratos e DNA tanto no corpo humano quanto em alimentos. Quando ocorre em células vivas causa o stress oxidativo, e é relacionado a inúmeras doenças como câncer e hipertensão. Em alimentos a oxidação está ligada a diminuição da vida de prateleira e a produção a degradação das características sensoriais (ESKIN; SHAHIDI, 2013).

Os antioxidantes são quaisquer substância que quando presente em pequenas quantidades, quando comparada ao substrato oxidável presente no meio, atrasa ou inibe de maneira significativa a oxidação do mesmo (ABU-GHANNAM; JAISWAL, 2015). Antioxidante podem ser sintéticos ou naturais. Os naturais podem ser encontrados de maneira endógenas na forma de enzimas (catalase, SOD, glutathione peroxidase). Porém é muito mais comum em nutrientes presentes nos alimentos como minerais (zinco e selênio), vitaminas (A, E, C), carotenoides (licopeno, luteína) e polifenóis (flavonoides e ácidos fenólicos) (CÖMERT; GÖKMEN, 2018).

Os mecanismos de ação dos antioxidantes podem ser divididos em três: primários que atuam interrompendo a oxidação pela doação de hidrogênio aos radicais livres, esses são representados pelos compostos fenólicos, tocoferóis e carotenoides: secundários atuam estabilizando os peróxidos e hidroperóxidos, sendo representados pelas vitaminas C, A, E e compostos fenólicos: sinergistas atuam aumentando a atividade dos antioxidantes primários, representado pelo ácido ascórbico: agentes sequestrantes/quelantes atuam complexando íons metálicos, são representados pelo ácido cítrico e fosfato: e os removedores de oxigênio que aumentam a atividade dos antioxidantes primários (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018; ESKIN; SHAHIDI, 2013).

Os compostos fenólicos são metabólicos secundários das plantas. Sendo mecanismos de defesa produzidos pelas plantas contra a autooxidação decorrente da fotossíntese. A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos depende de sua estrutura

em especial dos grupos hidroxila e seus anéis aromáticos(CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

4. ABORDAGEM METODOLÓGICA

4.1 MATERIAIS

Os insumos para a produção da cerveja (maltes, lúpulo, levedura e equipamentos) foram adquiridos no mercado local em João Pessoa – PB. As jabuticabas foram obtidas no mercado local de Bananeiras – PB.

As produções das cervejas foram conduzidas Laboratório de Produtos Fermento Destilados – LPFD- Campus I – UFPB. As análises físico-químicas foram conduzidas no LPFD e no Laboratório de Química de Alimentos, Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas – LBA. Assim como todos os reagentes e equipamentos foram disponibilizados pelos laboratórios onde as análises foram realizadas.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Processamento das jabuticabas

As jabuticabas foram lavadas e higienizadas para a retiradas de sujidades provindas do campo, selecionadas de acordo com o estado de maturação desejado levando em consideração a cor e textura. Em seguida sanitizadas com hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 min, então retirada uma amostra para análises de caracterização e por fim

Figura 3 – Jabuticabas sendo higienizadas e congeladas.



foram embaladas em sacos plásticos de 2 Kg de volume, congeladas e mantidas a -18°C até o momento que foram utilizadas como observado na Figura 3

Fonte: Próprio autor (2021).

4.2.2 Formulação da cerveja de jaboticaba (*Sabará Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg.)

As formulações foram elaboradas com o auxílio do software BeerSmith2[®] seguindo as indicações das características esperadas para o estilo *Saison* descritas pelo BJCP (2015). A adição das jaboticabas congelada inteiras foi realizada durante a fase de fervura ou no quinto dia após o início da fermentação.

Foram propostos quatro tratamentos como descritos na Tabela 2; dois com a adição de 30 e 15% de jaboticaba inteira, em relação a massa de mosto, durante a fervura (amostras A e B respectivamente); dois com adição de 30 e 15% da fruta inteira (amostras C e D respectivamente) cinco dias após o início da fermentação.

Tabela 2 - Formulação das cervejas de jaboticaba

Tabela com os ingredientes utilizados para a produção das cervejas			
Maltes	Lúpulos	Levedura	Jaboticaba
Pilsen		BE-134 SafeAle [®]	15- 30% de
Trigo	Cascade	(<i>S. cerevisiae</i> var.	fruta por Litro de
Viena	Columbus	<i>diastaticus</i>)	mosto
Caramunich			

Fonte: Próprio autor (2021) (2021). (2021)

A cerveja base foi elaborada com a combinação de maltes pilsen, trigo, Vienna e Caramunich e lúpulos (Cascade e Columbus). As proporções de fruta foram entre 10% e 40% relativo ao volume de mosto. As quantidades foram escolhidas baseadas nas cervejas de frutas clássicas, já presentes no mercado descritas por Nardini et al. (2020).

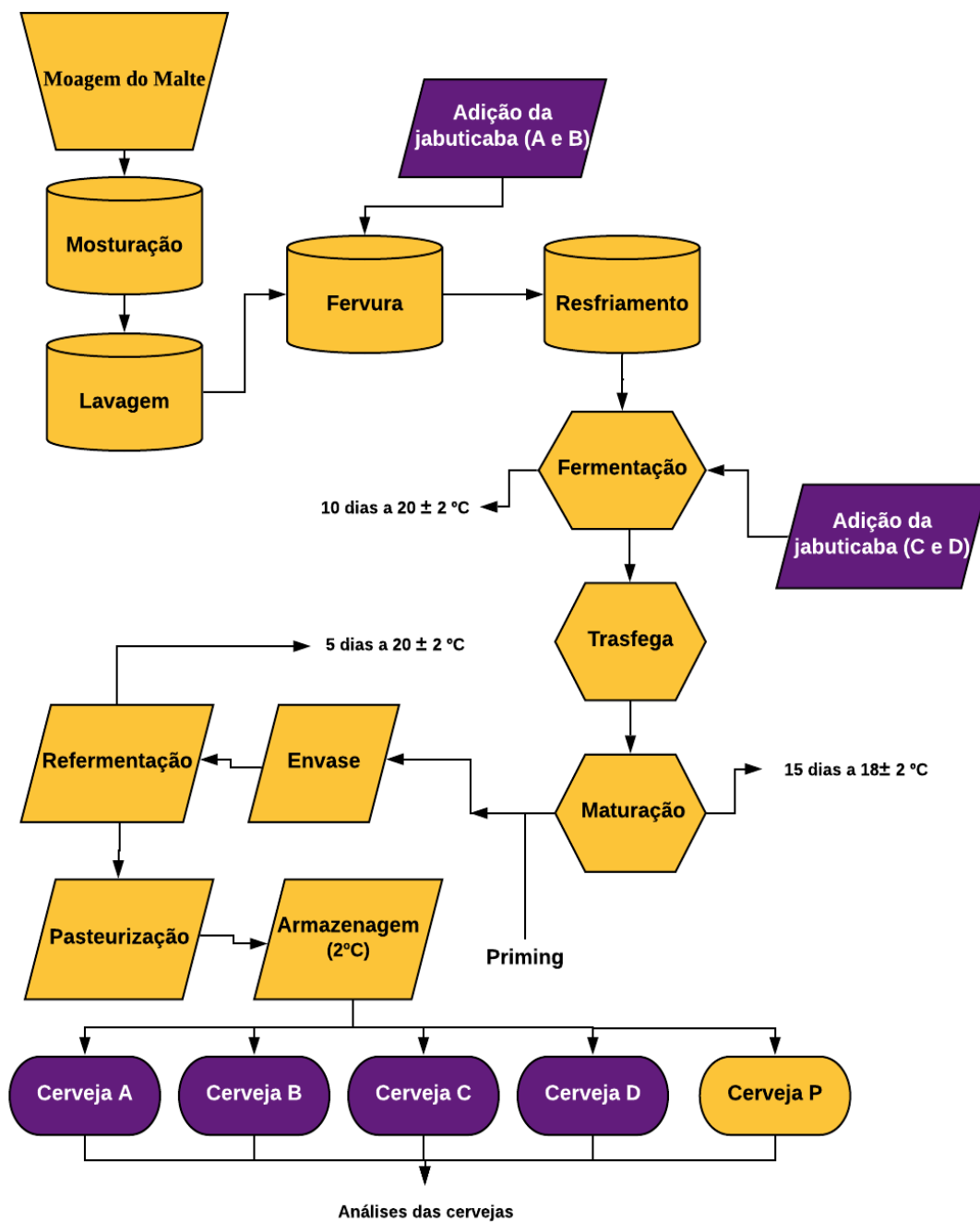
O parâmetro de controle para início da fermentação do mosto foram os sólidos solúveis totais (~ 10 °Brix), o qual determinou o inóculo da levedura.

A levedura escolhida foi a BE-134 SafeAle[®] (*S. cerevisiae* var. *diastaticus*) de alta fermentação utilizadas para a produção de cervejas *saison-belgas*. O inóculo foi de 6×10^6 células/mL de mosto levando em consideração a razão de $0,6 \times 10^6$ células/mL para cada °Brix como descrito por White et al. (2010) para cervejas do tipo ale e a recomendação do fabricante.

4.2.3 Produção da cerveja de jabuticaba

A cerveja foi produzida com o auxílio de uma máquina para produção de cerveja The GrainFather® Seguindo o fluxograma descrito na Figura 4.

Figura 4- Fluxograma de produção da cerveja com jabuticaba



Fonte: Próprio autor (2021).

4.2.3.1 Moagem do malte

Os maltes foram separados e pesados de acordo com a receita (item 4.2.2), em seguida foram moídos em moinho de discos, expondo a sessão amilar do malte com o mínimo de dano a casca do grão, que foi usada na de filtragem.

4.2.3.2 Mosturação

Os grãos moídos junto das cascas foram imergidos em água pré-aquecida e mantido a 66,7 °C por uma hora sob recirculação mantendo a temperatura homogênea durante todo o processo, em seguida a temperatura foi elevada a 77,6° C, para a desativação das enzimas, por 10 min. Após o *mash out* o mosto foi filtrado pela cama de casca de grãos e em seguida a cama de grãos foi lavada com água a 75,6° C, para a retirada dos açúcares remanescente no bagaço.

4.2.3.3 Fervura

Após a lavagem o mosto foi levado à fervura (100°C) por uma hora. Ao início da fervura adicionou-se as jabuticabas inteira em *hop bags*, nas proporções indicadas previamente, para as amostras A e B. Os lúpulos foram adicionados ao início da fervura (Columbus) e a 45 min após o início da fervura (Cascade)

Para as amostras A e B foi reservado ¼ da água de lavagem a 100 °C para realizar a lavagem do *hop bag* com as frutas após a fervura para retirar compostos remanescentes do resíduo como pode ser observado na Figura 5.

Após a fervura o mosto foi resfriado com o auxílio de um chiller de inox à temperatura de 20±2° C para a fermentação.

Figura 5- Lavagem do *hop bag* com jabuticaba.



Fonte: Próprio autor (2021).

4.2.3.4 Fermentação e maturação

A fermentação durou 10 dias a $20 \pm 2^\circ \text{C}$, seguindo a cinética descrita pelo fabricante (FERMENTIS, 2018). Para as amostras C e D no quinto dia de fermentação adicionou-se as jabuticabas inteiras em *hop bags* e a fermentação prosseguiu até o decimo dia.

Em seguida a temperatura foi reduzida para $5 \pm 2^\circ \text{C}$ por 3 dias para a sedimentação das leveduras e foi realizada a trasfega, posteriormente a temperatura foi ajustada para $18 \pm 2^\circ \text{C}$ durante 15 dias para a maturação depois a temperatura foi reajustada para $3 \pm 2^\circ \text{C}$ (clarificação) por 2 dias.

4.2.3.5 Envase

Antes do envase adicionou-se 12g de açúcar refinado de cana invertido por L de cerveja, como *priming*, engarrafou-se as cervejas e as refermentou até atingir 4.0 volumes CO_2 (carbonatação ideal para cervejas do estilo *season* com frutas). Diminuiu-se a temperatura para $2 \pm 2^\circ \text{C}$ para o armazenamento.

4.2.4 Análise físico-química das cervejas produzidas

- O pH da cerveja foi determinado por pHmetro Quimis microprocessado de bancada, modelo 0400MT de bancada (AOAC, 2016).
- A acidez total da cerveja e da fruta foi determinada por titulometria (AOAC, 2016).
- Os sólidos solúveis totais (SST) da fruta foi determinado por refratômetro de Abbé.

As cores das cervejas foram determinadas Colorímetro Konica Minolta CR-400 com iluminante C e placa de calibração Y: 92.75, x: 0.3142, y: 0.3207

Os teores alcoólicos das cervejas foram determinados por ebulliometria.

O amargor (IBU) foi determinado utilizando 10 mL da cerveja que foram transferidos para balões (35mL), e 1 mL de solução de ácido hidrocloreídrico (3mol/L HCL) em seguida 20 mL de iso-octano foi adicionada nos balões. Os balões foram misturados por 5 min. Em seguida 10mL da solução foi centrifugada (3000 rpm, 5 min). A absorbância do sobrenadante foi medida em espectrômetro com comprimento de onda 275nm e iso-octato foi usado como padrão (SUPELCO, 2019). A formula utilizada para calcular o IBU foi: $IBU = 50 * A$ (sendo “A” a absorbância).

4.2.5 Composto fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais nas cervejas foram determinados usando método espectrométrico Folin-Ciocalteu (F-C) descritos por Singleton, Orthofer, and Lamuela-Raventós (1999) com modificações. Para as análises foi pipetada 180 µL da amostra e 60 µL de solução F-C e 2580 µL de água destilada foi transferida para um tubo. Após 10 min, adicionou-se 180 µL de solução aquosa de 15% de carbonato de sódio (Na_2CO_3) mistura-se e deixa descansar por 2 h a temperatura ambiente no escuro. A absorbância foi medida em comprimento de onda 765 nm, e o resultado foi expresso em equivalente a ácido gálico (EAG) por litro de cerveja.

4.2.6 Perfil de compostos fenólicos, açúcares e ácidos orgânicos por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

Açúcares e ácidos orgânicos das cervejas e do mosto foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência. As amostras submetidas a remoção do gás carbônico por meio de banho ultra-sônico em seguida foram centrifugadas (4000g x 15min) e filtradas em filtros 0,45µm Millex-HA (Millipore Co., Bedford, MA) as amostras do mosto foram diluídas a 10^{-1} em água destilada.

Açúcares e ácidos orgânicos foram determinados como descrito por Coelho, e. m. *et al.* (2018). Os filtrados foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) usando Agilent cromatógrafo (modelo 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, USA) equipado com detector de arranjo de diodo (DAD) e um detector de índice de refração (RID). A detecção dos ácidos orgânicos e açúcar foi realizada a 210nm e as condições analíticas foram: uma coluna. Agilent Hi-Plex H (7.7x300mm, 8 µm); H₂SO₄ 4mmol/L em água ultrapura como fase móvel (fluxo de 0,5mL/min).

Para a quantificação dos compostos fenólicos as amostras foram submetidas a remoção do gás carbônico por meio de banho ultra-sônico em seguida foram centrifugadas (4000g x 15min), filtradas em filtros 0,45µm Millex-HA (Millipore Co., Bedford, MA) e injetadas (20-µL) como descrito por Padilha et al. (2017). As colunas utilizadas para separar os compostos foram Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 x 4.6mm, 3.5µm) e Zorbax C18 (12.6 x 4.6mm, 5 µm). A temperatura do forno foi programada para 35 °C e a fase móvel foi composta de água acidificada (pH2.0) com 0.1 mM/L de ácido fosfórico (fase A) e metanol acidificado com 0.5% de ácido fosfórico (fase B). O fluxo foi mantido a 0.8 mL/min. Os dados obtidos pelo DAD foram processados usando o programa OpenLAB CDS ChemStation Edition TM (Agilent Technologies). A detecção dos compostos fenólicos foi feita a 220 nm para catequina epicatequina, epigallocatequina gallate, procianidina B1 e procianidina B2; 280 nm para ácido gálico, ácido siríngico e hesperidina; 320nm para ácidos caftarico, cafeico e clorogênico ;360nm para kaempferol 3-glucosídeo, quercetina 3-glucosídeo e rutina e 520nm para cianidina 3,5-diglucosídeo e delphinidina 3-glucosídeo.

Os picos de açúcares, ácidos orgânicos e compostos fenólicos foram identificados comparando o tempo de retenção com padrões (SIGMA Aldrich, St. Louis, USA) e a quantificação foi feita usando a média de área das injeções. Todos os compostos

analisados (açúcares, ácidos orgânicos, e fenólicos) apresentaram as curvas calibradas com $R^2 > 0.998$.

4.2.7 Atividade antioxidante

4.2.8.1 Método de sequestro de radicais livres DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

Determinou-se a atividade antioxidante das amostras segundo a metodologia descrita por Brand-williams, Cuvelier e Berset (1995) com modificações descritas por Rufino, M. S. M. *et al.* (2009). As amostras foram diluídas em água destilada (1:20). O método consiste na preparação do radical DPPH a 80 μM . Em seguida 180 μL da solução foi adicionada em 20 μL da amostra, depois de 30min, a absorbância foi mensurada a 515 nm em leitor de microplacas (Modelo Fluorstar Omega, BMG LABTEC, Alemanha). Os resultados foram expostos em mmol equivalentes de TE/L.

4.2.8.2 Atividade antioxidante pela Redução do complexo férrico (FRAP)

A metodologia FRAP foi realizada de acordo com o descrito por Rufino *et al.*, (2006), com modificações. A solução FRAP foi preparada com 0,3 M de padrão acetato (pH 3.6), e 10 mM da solução de TPTZ diluído em 40mM de HCL e 20mM de solução de cloreto de férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Essa solução foi usada como branco. A amostra foi diluída (1:21) com água destilada. Uma alíquota de 20 μL da amostra diluída foi adicionada em 180 μL de solução FRAP a mistura foi homogeneizada e incubada a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 30 min. A capacidade de redução do complexo férrico foi monitorada pelo aumento da absorbância a 620nm em leitor de microplacas (Modelo Fluorstar Omega, BMG LABTEC, Alemanha). A capacidade antioxidante foi expressa em mmol equivalentes de TE/L.

4.2.8.3 Atividade antioxidante pela Capacidade de Absorver Radical Oxigênio (ORAC)

O teste ORAC foi realizado como descrito por Zulueta, Esteve e Frígola, (2009). As amostras foram diluídas em água destilada (1:15). Uma alíquota de 20 μL foi retirada e adicionada em 120 μL de solução fluorescente em seguida adicionou-se 60 μL de

solução AAPH (178nM), iniciando a reação. A intensidade da fluorescência foi mensurada cineticamente a cada 1 min (excitação: 285nm, emissão: 520nm) em leitor de microplacas (Modelo Fluorstar Omega, BMG LABTEC, Alemanha). Por fim uma curva de calibração foi desenhada. A capacidade antioxidante foi expressa em mmol equivalentes de TE/L.

4.2.8 Perfil de voláteis

A extração dos voláteis foi realizada utilizando-se a técnica de microextração em fase sólida (SPME) com dispositivo SPME da Supelco (Bellafonte, PA, USA). A fibra utilizada foi 50/30 μm divinilbenzeno/ carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), ativada de acordo com as condições do fabricante (270°C/ 60 min).

As amostras foram preparadas como descrito por Zapata *et al.* (2019) utilizando 15mL de cerveja com adição de 1,5g de NaCl em frasco de vidro de 100 mL hermeticamente fechados com tampas rosqueáveis, contendo septo revestido de teflon. Após o equilíbrio a 40°C por 10 min, a fibra foi exposta ao headspace por 50 min sob agitação. O tempo de dessorção foi de 10min. As amostras foram analisadas em triplicata.

A separação dos compostos foi realizada em cromatógrafo a gás 7890B acoplado a um espectrômetro de massas da Agilent Technologies 5977B (Little Falls, DE, USA). A coluna utilizada foi a VF-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μm). O forno foi inicialmente aquecido 40°C por 10 min, seguido por outro aumento até 240°C a uma taxa de 5°C/min, mantendo-se nessa temperatura por 11 minutos, totalizando 61 min de tempo de corrida. O sistema operou no modo splitless. A linha de transferência entre o cromatógrafo e espectro de massa foi de 230°C. A válvula do split foi aberta 5 min após a injeção. A temperatura do injetor foi mantida a 250°C. O espectrômetro de massa foi operado por impacto de elétrons com uma temperatura da fonte de 230°C, e com energia de ionização de 70eV, variação de scan de m/z 35 a m/z 350 a 3.33 scan/s.

A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas, tendo sido confirmada por comparação dos seus espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecida pelo equipamento NIST (National Institute of Standards & Technology, E.U.A), bem como através dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, através da injeção de n-alcanos homólogos (C8-C30).

4.2.9 Análise microbiológica

A análise microbiológica foi realizada seguindo a exigência da legislação segundo a IN nº 65, de 10 de Dezembro de 2019 do MAPA Brasil, (2019) que estabelece os parâmetros microbiológicos para a cerveja de coliformes 35 °C/50 mL ausente. Foi realizado o teste de coliformes por NMP como descrita por APHA, 2012.

RDC 331 IN 60 nº

4.2.10 Análise sensorial – Grupo Focal

A proposta da análise sensorial foi submetida ao conselho de ética em pesquisa (CEP- CCS/UFPB) e aprovada (CAEE:45381521.5.0000.5188) dia 27 de abril de 2021. Os julgadores foram selecionados através de questionário online (Apêndice II) foram escolhidos 12 julgadores, consumidores cerveja artesanal, entre 20 e 60 anos, nos quais consomem produtos semelhantes pelo menos 3 vezes por semana a mais de 1 anos. As amostras foram entregues nas residências dos julgadores selecionados e as sessões foram realizadas de maneira remota (on-line) seguindo todas as medidas preventivas determinadas pela OMS referente a pandemia Covid-19.

A cada julgador foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice I), norteado pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), autorizando sua participação voluntária no estudo, informando sobre a natureza da pesquisa, objetivos, finalidade, riscos potenciais e/ou incômodos. Os questionários foram aplicados com o auxílio do GoogleDocs®.

Os julgadores foram separados em 3 grupos de foco e entrevistados de maneira informal, estruturada com um auxílio de roteiro de perguntas Quadro 1, incentivando discussões como descrito por O’Sullivan (2020). As discussões duraram entre 1 -2 horas com 5 julgadores, um mediador treinado e um assistente. As sessões foram gravadas em vídeo para análise.

Quadro 1- Roteiro da sessão de grupo focal**Roteiro para do grupo focal**

- 1)Primeiramente os julgadores foram convidados a escrever descritores para os atributos de aparência, aroma, sabor e textura da amostra apresentada.**
- 2)Em seguida os julgadores foram incentivados a discutir entre si os descritores escolhidos para cada atributo**
- 3) Por fim discutirem o que gostaram ou desgostaram em cada atributo e no produto de forma global.**

Os dados obtidos durante as sessões do grupo focal foram revisados e comparados entre si em busca de similaridades entre as respostas reafirmando características das amostras. Respostas únicas e/ou diferentes agregaram novas ideias ao estudo.

Devido à natureza qualitativa do método análise estatística não foi realizada, porém os resultados do perfil dos julgadores foram apresentados em forma de porcentagem facilitando o entendimento.

4.2.11 Análise estatística

Os dados obtidos nas análises propostas foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk em seguida foi realizada a análise de variância (ANOVA) ou teste Kruskal–Wallis, juntamente com o teste de Tukey ou Dunn de probabilidade, utilizado para a determinação de diferenças entre as médias obtidas de cada tratamento e os resultados foram expostos $\pm$ desvio padrão. A análise de componentes principais (PCA) foram realizadas para os compostos voláteis e as características físico-químicas das cervejas as variantes utilizadas nos PCAs foram determinadas pelo teste de correlação de Spearman sendo retirada variáveis com correlação acima de 90%. Os testes estatísticos foram realizados com auxílio dos softwares Statistica version 10 (StatSoft,2012) e Past version 4.06b (2021).

REFERÊNCIAS

ABERL, A.; COELHAN, M. Determination of volatile compounds in different hop Varieties by headspace-trap GC/MS-in comparison with conventional hop essential oil analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 11, p. 2785–2792, 21 mar. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>>. Acesso em: 11 maio 2021.

ABU-GHANNAM, N.; JAISWAL, A. K. Blanching as a Treatment Process: Effect on Polyphenol and Antioxidant Capacity of Cabbage. *Processing and Impact on Active Components in Food*. [S.l.]: Elsevier Inc., 2015. p. 35–43.

ALBUQUERQUE, B. R. *et al.* Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. *Food Chemistry*, v. 309, p. 125735, 30 mar. 2020.

AOAC. *Official methods of analysis*. 20th. ed. Gaithersburg: AOAC Intl, 2016.

APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 22. ed. [S.l.]: American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation., 2012.

BEKATOROU, A. Alcohol: Properties and Determination. *Encyclopedia of Food and Health*, p. 88–96, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472000179>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

BJCP. *BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM 2015 STYLE GUIDELINES Beer Style Guidelines*. . [S.l: s.n.], 2015. Disponível em: <www.bjcp.org>. Acesso em: 5 nov. 2020.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. *LWT - Food Science and Technology*. [S.l.]: Academic Press. , 1 jan. 1995

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 65, DE 10 DE DEZEMBRO DE 2019 - INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 65, DE 10 DE DEZEMBRO DE 2019 - DOU - Imprensa Nacional. , 2019. Disponível em: <[https://www.in.gov.br/en/web/dou/-](https://www.in.gov.br/en/web/dou/)

/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: 5 nov. 2020.

BREWERS ASSOCIATION. *Brewers association - 2019 beer style guidelines*. [S.l.: s.n.], 2020. Disponível em: <<https://www.brewersassociation.org/resources/brewers-association-beer->>. Acesso em: 6 dez. 2019.

BREWERS ASSOCIATION. *Craft Brewer Definition | Brewers Association*. Disponível em: <<https://www.brewersassociation.org/statistics-and-data/craft-brewer-definition/>>. Acesso em: 5 dez. 2019.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. *Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. Trends in Food Science and Technology*. [S.l.]: Elsevier Ltd. , 1 jan. 2018

CHO, J.-H. *et al.* Persimmon fruit enhanced quality characteristics and antioxidant potential of beer. *Food Science and Biotechnology*, v. 27, n. 4, p. 1067–1073, 24 ago. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10068-018-0340-2>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

COELHO, E. M. *et al.* Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 66, p. 160–167, 1 mar. 2018.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. *Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. Food Research International*. [S.l.]: Elsevier Ltd. , 1 mar. 2018

DABIJA, A. *et al.* Maize and Sorghum as Raw Materials for Brewing, a Review. *Applied Sciences*, v. 11, n. 7, p. 3139, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/app11073139>>. Acesso em: 22 maio 2021.

DANIELS, R. *Designing Great Beers: The Ultimate Guide to Brewing Classic Beer Styles - Ray Daniels - Google Livros*. Boulder: Brewers Publications, 1998. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-PT&lr=&id=r8yQAwwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT8&dq=Designing+Great+Beers:+The+Ultimate+Guide+to+Brewing+Classic+Beer+Styles&ots=tYmJlnPZym&sig=l5bYNPTKhCdmU1HZNEID3TAbR8#v=onepage&q=Designing+Great+Beers%3A+The+Ultimate+Guide>>. Acesso em: 6 dez. 2019.

DE ANDRADE NEVES, N. *et al.* Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jabuticaba (*Plinia spp.*) identified by HPLC-DAD-ESI/MS n. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.078>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

DE SÁ, L. Z. C. M. M. *et al.* Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jabuticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). *Journal of Functional Foods*, v. 8, n. 1, p. 169–179, 1 maio 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464614000814>>. Acesso em: 5 maio 2019.

DONADO-PESTANA, C. M. *et al.* Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. *Current Opinion in Food Science*, v. 19, p. 42–49, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799317302187>>. Acesso em: 4 maio 2019.

DUCRUET, J. *et al.* Amber ale beer enriched with goji berries – The effect on bioactive compound content and sensorial properties. *Food Chemistry*, v. 226, p. 109–118, 1 jul. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461730047X?via%3Dihub>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

ESKIN, M.; SHAHIDI, F. *Bioquímica de Alimentos*. 3ª ed. [S.l.]: Elsevier Editora Ltda., 2013.

FERMENTIS. *Active dry yeast and fermentation explained to brewers*. Disponível em: <https://fermentis.com/wp-content/uploads/2019/04/Brochure_Tips_and_Tricks_201810_BD-1.pdf>. Acesso em: 8 out. 2019.

GALLONE, B. *et al.* Origins, evolution, domestication and diversity of *Saccharomyces* beer yeasts. , 1 fev. 2018, p. 148–155. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166917301076>>. Acesso em: 3 out. 2019.

GAMERO, A. *et al.* Wine, Beer and Cider: Unravelling the Aroma Profile. *Molecular Mechanisms in Yeast Carbon Metabolism*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin

Heidelberg, 2014. p. 261–297. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-55013-3_10>. Acesso em: 14 jul. 2019.

HACKE, A. C. M. *et al.* Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. *Journal of Food Science*, v. 81, n. 9, p. C2206–C2217, set. 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/1750-3841.13405>>. Acesso em: 15 maio 2019.

HARRISON, M. A.; ALBANESE, J. B. Beer/Brewing. *Reference Module in Life Sciences*, n. September 2016, p. 1–11, 1 jan. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128096338130146>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

HOLT, S. *et al.* The molecular biology of fruity and floral aromas in beer and other alcoholic beverages. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 43, n. 3, p. 193–222, 1 maio 2019. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsre/article/43/3/193/5184464>>. Acesso em: 14 jul. 2019.

HORNSEY, I. S. Beer: History and Types. *Encyclopedia of Food and Health*, p. 345–354, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012384947200057X>>. Acesso em: 1 out. 2019.

INADA, K. O. P. *et al.* Bioaccessibility of phenolic compounds of jaboticaba (*Plinia jaboticaba*) peel and seed after simulated gastrointestinal digestion and gut microbiota fermentation. *Journal of Functional Foods*, v. 67, p. 103851, 1 abr. 2020.

INADA, K. O. P. *et al.* Jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice obtained by steam-extraction: phenolic compound profile, antioxidant capacity, microbiological stability, and sensory acceptability. *Journal of Food Science and Technology*, v. 55, n. 1, p. 52–61, 1 jan. 2018.

INADA, K. O. P. *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. *Journal of Functional Foods*, v. 17, p. 422–433, 1 ago. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.002>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

KARABÍN, M. *et al.* Enhancing the performance of brewing yeasts. *Biotechnology Advances*, v. 36, n. 3, p. 691–706, maio 2018. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29277309>>. Acesso em: 3 out. 2019.

KAWA-RYGIELSKA, J. *et al.* Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. *Food Chemistry*, v. 281, p. 147–153, 30 maio 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619300020>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

KIRIN. Kirin Beer University Report Global Beer Production by Country in 2018 | 2019 | News Releases | Kirin Holdings. , 2019. Disponível em: <https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2019/1003_01.html>. Acesso em: 5 dez. 2019.

LI, M.; DU, J.; ZHANG, K. Profiling of carbohydrates in commercial beers and their influence on beer quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 100, n. 7, p. 3062–3070, 1 maio 2020.

LI, Q.; WANG, J.; LIU, C. *Beers*. [S.l.]: Elsevier, 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444636669000121>>. Acesso em: 12 jul. 2019.

LIMA, A. *et al.* Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v. 58, n. 4, p. 416–421, 2008. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/262661021>>. Acesso em: 24 abr. 2019.

LIMA, A. DE J. B. *et al.* Sugars, organic acids, minerals and lipids in Jabuticaba. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 33, n. 2, p. 540–550, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452011000200026&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 9 nov. 2020.

LIVENS, S. Beer: Fermentation. *Encyclopedia of Food and Health*, p. 339–344, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472000593>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

MALLET, J. *Malt : a practical guide from field to brewhouse*. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2014. v. 51.

MAPA. *Anuário da cerveja - 2019*. . [S.l.: s.n.], 2020. Disponível em:

<www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 5 nov. 2020.

MARTINEZ-GOMEZ, A.; CABALLERO, I.; BLANCO, C. A. *Phenols and melanoidins as natural antioxidants in beer. Structure, reactivity and antioxidant activity*. *Biomolecules*. [S.l.]: MDPI AG. Disponível em:

<www.mdpi.com/journal/biomolecules>. Acesso em: 16 maio 2021. , 1 mar. 2020

MORALES, P. *et al.* Non-fermented and fermented jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) pomaces as valuable sources of functional ingredients. *Food Chemistry*, v. 208, p. 220–227, 1 out. 2016. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616305192?via%3Dihub>>.

Acesso em: 24 abr. 2019.

NARDINI, M.; GARAGUSO, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. *Food Chemistry*, v. 305, p. 125437, 1 fev. 2020.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619315523>>. Acesso em:

24 set. 2019.

NERI-NUMA, I. A. *et al.* Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. *Food Research International*, v. 103, p. 345–360, 1 jan. 2018. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996917307330?via%3Dihub>>.

Acesso em: 16 jul. 2019.

O’SULLIVAN, M. G. Quantitative and qualitative affective methods for reformulation. *Salt, Fat and Sugar Reduction*, p. 167–182, 2020.

OSORIO-PAZ, I.; BRUNAUER, R.; ALAVEZ, S. Beer and its non-alcoholic compounds in health and disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 0, n. 0, p. 1–14, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1696278>>.

Acesso em: 16 maio 2021.

PADILHA, C. V. DA S. *et al.* Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food Chemistry*, v. 228, p. 106–115, 1 ago. 2017.

PALMER, J.; KAMINSKI, C. *Water A Comprehensive Guide for Brewrs*. Boulder,

Colorado: Brewers Publications, 2013.

RUFINO, M. DO S. M. *et al.* Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método da redução de ferro (FRAP). *Comunicado Técnico Embrapa*, v. 125, p. 3–6, 2006. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/664098/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pelo-metodo-de-reducao-do-ferro-frap>>. Acesso em: 7 jun. 2021.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH{radical dot} system. *Food Chemistry*, v. 114, n. 2, p. 693–695, 15 maio 2009.

SALOMÃO, L. C. C. *et al.* Jabuticaba—Myrciaria spp. *Exotic Fruits*, p. 237–244, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128031384000307>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

SEBRAE. Microcervejarias no brasil. *Sebrae*, p. 1–20, 2016. Disponível em: <www.sebrae.com.br>.

SHOPSKA, V. *et al.* Kinetic characteristics of alcohol fermentation in brewing: State of art and control of the fermentation process. [S.l.]: Elsevier Inc., 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128152713000130>>. Acesso em: 24 set. 2019.

STEWART, G. G. Beer: Raw Materials and Wort Production. *Encyclopedia of Food and Health*, p. 355–363, 1 jan. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472000581>>. Acesso em: 19 jul. 2019.

SUPELCO. Spectroquant Prove - Analysis Methods for the Brewery Industry. 2019, Darmstadt: Merck KGA, 2019. p. 118.

TANG, K.; LI, Q. Biochemistry of Wine and Beer Fermentation. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry*. [S.l.]: Elsevier Inc., 2017. p. 281–304.

WOLFGANG, K. *Wolfgang Kunze Technology brewing and malting*. . [S.l.: s.n.], , 2004

WU, S. B. *et al.* Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other

dark-colored fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 30, p. 7513–7525, 1 ago. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/sharingguidelines>>. Acesso em: 7 jun. 2021.

ZAPATA, P. J. *et al.* Phenolic, volatile, and sensory profiles of beer enriched by macerating quince fruits. *LWT*, v. 103, p. 139–146, 1 abr. 2019. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819300039>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, v. 114, n. 1, p. 310–316, 1 maio 2009.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussões da dissertação estão apresentados em forma de um artigo científico original intitulado: Physicochemical antioxidant and sensorial properties of jabuticaba Sabará Beers.

O artigo se encontra submetido e formatado nas normas do periódico Food and Bioprocess Technology.

Physicochemical antioxidant and sensorial properties of jabuticaba Sabará Beers

Abstract

Jabuticaba is a fruit native to Brazil known for its pleasant sweet taste and high concentration of phenolic compounds in its peel and seeds which when added in preparation can increase nutritional valor and stability provided by its antioxidant characteristics. This research aims to develop and study a Saison-style beer with the addition of jabuticaba. Four formulations were proposed with the addition of whole frozen jabuticaba berries at different stages of the process (boiling and fermentation). The beers were divided by their principal components and its flavor profile. Formulations with the addition of the fruit during the boiling step are marked by their high composition of phenolic compounds, antioxidant activity and aromas; γ and α -eudesmol. While beers with the addition of jabuticaba during fermentation, are distinguished by their higher alcohol content, procyanidin B1 and aromas; phenethyl alcohol, phenethyl acetate. As for their flavor profile all beers were described by different level of green leaves aroma, sour, astringent, and fruity herbal flavor. The ones with higher level of those traits were the beers with jabuticaba addition during the fermentation. However, those traits also came with high turbidity valor. The results imply that the addition of jabuticaba during the boiling step increases the extraction and concentrations of some phenolic compounds, thus the antioxidant capacity which benefits beer stability.

Keywords: Fruit beer, volatiles, phenolic compounds, antioxidant, focus group.

Statements and Declaration

Partial funding was received from CAPES (Finance code 001) and financial support and scholarship awarded to the first author (M. P. Carvalho).

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data Statement

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

1. Introduction

Beer is one of the most consumed alcoholic beverages in the world. It is usually made out of four ingredients; barley, hops, yeast and water. The addition of different raw materials results in new types of beers. Adding fruits is traditionally used in Belgium to produce cherry or raspberry Lambic. As the number of microbrewers grows all over the world adding fruit is becoming widespread and fruit beers with a myriad of flavors and aromas are getting popular (Kawa-Rygielska et al,2019).

Besides the gustative aspect of adding fruit into beer production, there is the benefit of the increased nutritional value. Many compounds present in the fruit are transferred to the beer increasing its bioactive potential. The addition of fruits rich in antioxidants rises the antioxidant activity of the beer (Nardini & Garaguso, 2020). Many studies show that moderate beer consumption can have a positive effect on human health (Olas & Bryś, 2020).

Jaboticaba is a sweet Brazilian native berry with purple skin and white pulp. Although appreciated *in natura* significant part of the harvest is lost due to its perishability (Salomão et al.,2018). Rich in phenolic compounds have a high antioxidant capacity and functional properties as anticarcinogenic, help with diabetes and cardiac

diseases (De Andrade Neves et al., 2018; Donado-Pestana et al., 2018; Neri-Numa, Soriano Sancho, Pereira, & Pastore, 2018).

This study aims to make a *Saison* beer adding whole jabuticaba berries in different stages of production to create a product with high antioxidant capacity and singular sensory aspect, studying its volatiles and physicochemical profiles.

2. *Material and methods*

2.1 *Material*

Fresh jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) were obtained in local market (6° 45'4"S, 35° 38'0"W, Brazil) in February 2020. The fruits with commercial ripening and health signs (without mechanical damage or visible infections, right color and size) were disinfected by 15-min immersion in a sodium hypochlorite solution (200 ppm) and frozen (-30 °C).

Malts and hops were purchased at a local market (João Pessoa, Brazil). *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* yeast (SafAle BE-134) was obtained from the Fermentis company (Lesaffre, France).

2.2 *Beer processing*

The jabuticaba beer was made based on the recipe for Saison-style beer with a color of 10 EBC bitterness of 28 IBU and 5.5 % ABV. The malt formulation was mostly Pilsen 3,9 EBC (85%) and equal parts (5%) of Vienna 6,9 EBC, Crystal 59,1 EBC, and wheat 3,9 EBC malts. The malts were milled and soaked at a concentration of 0.4 Kg/L of water. The mash happened at 66.7 °C for 1 h and was followed by mash out at 77.6 °C for 10 min. The wort was filtered and the residue was sparged with water at 78 °C. Frozen

Jabuticaba berries were added at a concentration of 300g/L of wort (Beer A) and 150g/L of wort (Beer B). A mix of Columbus (14%) and Cascade (5.5%) hops (50/50) was added in all beers at a concentration of 1.4g/L of wort. The boiling step lasted 1 h at 100 °C, then cooled to 20 °C. *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* SafAle BE-134 was rehydrated and added at a rate of 0.46 g/L of wort as recommended by the producer. Whole jabuticaba berries were added 5 days into the fermentation at a rate of 300g/L of wort (Beer C) and 150g/L of wort (Beer D). The whole fermentation lasted 10 days at 20 °C. Maturation occurred for 20 days at 18 °C. The beers were bottled into 500mL glass bottles and refermented for 7 days by the addition of 12g of inverted sugar /L of beer at 20 °C. The standard beer (P) was made without jabuticaba.

2.3 *Standard Physicochemical analyses of beers*

Total soluble solids (TSS), pH, and titratable acidity (TA) of the beers were measured following standard procedures (AOAC, 2016). TTS (°Brix) was determined using refractometer (KASVI, China). pH was measured using digital pHmeter (Quimis, São Paulo, Brazil) (981.12). The TA values were determined by titrating the beers with 0.1 NaOH (942.15) and expressed in acetic acid. Alcohol content was measured by ebulliometer. Bitterness was determined as described by Kawa-Rygielska et al. (2019). All beers samples were degassed prior to analyses.

2.4 *Total polyphenol content (TPC) and antioxidant activity assays*

2.4.1 *Total polyphenol content (TPC)*

The TPC was determined using Folin-Ciocalteu (F-C) spectrophotometric method described by Slinkard and Singleton (1977) with modifications. First, the beers were degassed and diluted in distilled water (1;15). 180 µL of the solution were added in 2.58

mL of distilled water and 60 μ L of F-C solution then homogenized. After 3 min 180 μ L of a 15% solution of sodium carbonate (Na_2CO_3). The absorbance was measured at 765 nm in spectrophotometer (DU-8200, Drawell, China) after 2 h in the dark, and the results were expressed as mg of gallic acid equivalents (GAE/L of beer).

2.4.2 *Free-radical-scavenging ability by the use of a DPPH radical.*

The antiradical activity was determined according to the methodology described by Brand-williams, Cuvelier and Berset (1995) with modifications described by Rufino et al (2009). Samples were diluted in distilled water (1:20). It was prepared a DPPH solution at 80 μ M. The DPPH solution (180 μ L) was added to 20 μ L of the diluted sample, the absorbance was measured after 30 minutes at 515 nm in a microplate reader (Model Fluorstar Omega, BMG LABTEC, Germany). Results were reported in mmol equivalent of TE/L.

2.4.3 *Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP) assay*

The FRAP assay was performed as described by Rufino et al. (2006), with modifications. The FRAP solution was prepared with 0.3 M acetate buffer (pH 3.6) in 10 mM TPTZ solution diluted in 40 mM HCL and a 20 mM ferric chloride solution ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). This solution was used as blank. The samples were diluted (1:21) with distilled water and 20 μ L of it was added into 180 μ L of FRAP solution, the mixture was homogenized and incubated at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ for 30 min. The ability to reduce the ferric complex was monitored by the increase of the absorbance at 620nm in a microplate reader

(Model Fluorstar Omega, BMG LABTEC, Germany). The antioxidant capacity was expressed in mmol equivalent of TE/L.

2.4.4 *Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay*

The ORAC assay was performed as described by Zulueta, Esteve and Frígola (2009). Samples were diluted in distilled water (1:15) and 20 μ L of the diluted solution was added to 120 μ L of fluorescent solution as well as 60 μ L of AAPH solution (178nM). Fluorescence intensity was read every 1 min (excitation: 285nm, emission: 520nm) in a microplate reader (Model Fluorstar Omega, BMG LABTEC, Germany). The calibration curve was drawn and the antioxidant capacity was expressed in mmol equivalent of TE/L.

2.5 *Identification of the sugars, organic acids and phenolic compounds in jabuticaba beers by HPLC-DAD*

Samples were degassed by ultrasonic bath then centrifuged (4000g x 15min) and the supernatant was filtered through 0.45 μ m Millex-HA filters (Millipore Co., Bedford, MA).

Sugars and organic acids were determined as described by Coelho et al. (2018). The filtrates samples were quantified by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) using an Agilent chromatograph (model 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, USA) equipped with a diode arrangement detector (DAD) and a refractive index detector (RID). The detection of organic acids and sugar was carried out at 210nm and the analytical conditions were: Agilent Hi-Plex H column (7.7x300mm, 8 μ m); 4mmol/L H₂SO₄ in ultrapure water as mobile phase (flow of 0.5mL/min).

To quantify the phenolic compounds, the filtrate samples were injected (20- μ L) as described by Padilha et al. (2017). The columns used to determinate the phenolic compounds were Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 x 4.6mm, 3.5 μ m) and Zorbax C18

(12.6 x 4.6mm, 5 μ m) and the settings were as follow: oven temperature at 35 °C; the mobile phase (phase A) was composed of acidified water (pH2.0) with 0.1 mM/L phosphoric acid while phase B was acidified methanol with 0.5% phosphoric acid; the flow was kept at 0.8 mL/min. The wavelengths to detect the phenolic compounds were: 220 nm for procyanidin B1, procyanidin B2, epicatechin and epigallocatechin gallate; 280 nm for hesperidin, syringic acid and gallic acid; 320nm for caftaric, caffeic and chlorogenic acids; 360nm for rutin, quercetin 3-glucoside and kaempferol 3-glucoside; 520nm for delphinidin 3-glucoside and cyanidin 3,5-diglucoside.

The peaks identification was accomplished by comparison with standards (SIGMA Aldrich, St. Louis, USA) while the quantification was based on the areas of the peaks calculated by the software. The data obtained by DAD were processed using OpenLAB CDS ChemStation Edition TM (Agilent Technologies).

2.6 *Volatile composition*

Extraction of volatiles was performed using the solid-phase microextraction technique (SPME) with a SPME device from Supelco (Bellafonte, PA, USA). The fiber used was 50/30 μ m divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS), activated according to the manufacturer's guidelines (270°C/60 min).

The samples were prepared as described by Zapata et al. (2019) using 15 ml of beer added 1.5 g of NaCl in a 100 ml glass bottle hermetically closed with screw cap, containing Teflon-coated septum. After at 10 min at 40 °C, the fiber was exposed to the headspace for 50 min under agitation. Desorption time was 10min. Samples were analyzed in triplicate.

The volatiles compounds separation was performed by 7890B gas chromatograph connected to a 5977B Agilent Technologies mass spectrometer (Little Falls, DE, USA)

equipped with a VF-5MS column 30m x 0.25mm x 0.25 μ m. The oven was initially heated to 40 °C for 10 min then increased to 240°C at a rate of 5 °C/min, maintaining this temperature for 11 minutes, totaling 61 min of running time. The system operated in splitless mode and transfer line between the chromatograph and mass spectra was 230°C. The split valve was opened 5 min after injection. The injector temperature was held at 250 °C. The mass spectrometer was operated by electron impact with a source temperature of 230°C, and ionization energy of 70eV, scan range from m/z 35 to m/z 350 to 3.33 scan/s.

The identification of the compounds was performed by analyzing the fragmentation patterns displayed in the mass spectra, having been confirmed by comparing their mass spectra with those present in the database provided by the NIST equipment (National Institute of Standards & Technology, USA), as well as through their retention indices with those of known compounds, through the injection of homologous n-alkanes (C8-C30).

2.7 *Sensory analysis*

Sensory analysis proposal was submitted to the research ethics council and approved (CAEE: 45381521.5.0000.5188) on April 27, 2021. 12 craft beer experienced consumers were selected through an online questionnaire as judges. Drinking craft beer at least 3 times a week for more than 2 years, between 20 and 49 years old and consume similar products. The samples were delivered to their homes with a standardized glass. All participants were presented with an Informed Consent Form agreeing to participate in the study. The focus group session transpired remotely, following all preventive measures determined by WHO regarding the Covid-19 pandemic.

The judges were divided into 3 focus groups and interviewed informally, with the aid of a script, encouraging arguing as described by O'Sullivan (2020). Each session lasted between 1 to 2 hours with 4 judges, a trained mediator and an assistant. The sessions were videotaped for further analysis.

The data captured during the focus group sessions were reviewed and compared to each other in search of similarities between the responses, reaffirming the characteristics of the beers.

2.8 *Statistical analysis*

The data obtained, from the average of three replicates, in the proposed analyzes were prepared using the Shapiro-Wilk test, followed by an Analysis of Variation (ANOVA) or the Kruskal-Wallis test, together with the Tukey or Dunn test of probability and the results were exposed $\pm$ standard deviation.

Principal component analysis (PCA) was applied for volatile compounds and the physicochemical characteristics of the beers. The variants used in PCAs were determined by Spearman's correlation test, removing variables with correlation above 90%. Statistical tests were performed using XLSTAT Software (Addinsoft, New York, NY) and PAST Version 4.06b (2021).

3. *Results and Discussion*

3.1 *Basic physicochemical parameters of jabuticaba beers*

The analyzed basic physicochemical parameters of the beers are shown in Table 1. Beers C and D showed the highest values for luminosity (L^*) and blue/yellow (b^*). Indicating that the samples with the addition of jabuticaba during fermentation are lighter and with a higher proportion of yellow color. Ducruet et al. (2017) noted the increase in L^* when adding goji berries in the beer at the fermentation step. Beers A, B and P are

similar in terms of color, as the difference between them is less than 2 units of the CIE system ($L^*a^*b^*$) is undetectable to the human eye (Ducruet et al., 2017). Color is an important attribute for beers giving information about their style.

1 **Table 1-** Physicochemical parameters of jabuticaba beers.

Beers	Hunter's scale			pH	Titratable acidity (acetic acid) (m/v)	IBU	Total soluble solids (°Brix)	Alcohol content %
	Color							
	L*	a*	b*					
A	32.02 ± 0.02 b	-0.08 ± 0.03 b	0.08 ± 0.02 b	3.88 ± 0.04b	0.32 ± 0.03b	15.63 ± 0.3 c	3.4 ± 0.17 c	5.9 a
B	32.28 ± 0.08 c	-0.11 ± 0.02 b	0.14 ± 0.02 c	3.89 ± 0.04b	0.32 ± 0.03b	22.52 ± 0.2 b	3.42 ± 0.14 c	5.9 a
C	35.09 ± 0.07 a	1.03 ± 0.03 a	2.59 ± 0.02 a	3.67 ± 0.05c	0.34 ± 0.03b	17.52 ± 2.2 c	1.83 ± 0.14 b	6.4 c
D	35.40 ± 0.01 d	-0.59 ± 0.02 c	2.33 ± 0.03d	3.77 ± 0.09bc	0.34 ± 0.03b	22.52 ± 0.4b	2.08 ± 0.14b	6.2 b
P	32.22 ± 0.08 c	-0.11 ± 0.03 b	0.07 ± 0.01 bc	4.13 ± 0.06a	0.22 ± 0.02a	27.2 ± 0.2a	2.58 ± 0.14a	5.9 a

2 Results are expressed as mean (n=3) ± standard deviation. Different letters at the same columns indicate a difference between values at $p < 0.05$ (Tukey test).

3 Beers A, B are 30 and 15% jabuticaba added during boiling step respectively, C and D 30 and 15% jabuticaba added during fermentation respectively, and P without fruit.

All jabuticaba beers showed lower pH values and a higher TA when compared to standard beer (P). Jabuticaba is an acidic fruit with pH of ~3.55 due to the fruit's intrinsic organic acids, especially citric and succinic, thus increasing the acidity of the beers as these generally have a pH >3.5. (Benvenuti, Zielinski, & Ferreira, 2021; Nardini & Garaguso, 2020). The pH of the jabuticaba beers ranged from 3.67 to 3.89, which is in line with the results achieved by Nardini and Garaguso (2020) for fruit beers, which observed variance of 3.56 - 4.87 in the pH of beers from different fruits. Similar results were obtained by Gasiński et al. (2020) and Kawa-Rygielska et al (2019) when added mango and Cornelian cherry respectively. This characteristic can be seen as positive since the reduction of pH is related to better microbiological stability.

The beer bitterness (IBU) is directly related to the amount of hop in its formulation, although the proportion of hops was the same for all studied beers, differences were perceived. The IBU of the beers ranged from 15.63 to 27.2, where the beers with the addition of jabuticaba had lower values being $A = C < B = D < P$. Indicating the higher proportion of fruit led to a lower bitterness and/or a lower amount of isomerized alpha acids detected by the analysis. A similar result was observed by Kawa-Rygielska et al. (2019), Zapata et al. (2019) who obtained lower IBU values for beers with added Cornelian cherry and quince (15.1 and 8.7 respectively), when compared to the standards of the respective studies.

The alcohol content of beers C and D were higher since the addition of jabuticaba during fermentation added more fermentable sugars, hence more ethanol formation. The addition of fruits in beer usually implies a higher ABV (Ducruet et al., 2017; Gasiński et al., 2020; Kawa-Rygielska et al., 2019). Beers A and B were initially standardized with similar TTS as P.

3.2 Profile of the sugars, organic acids and phenolic compounds in jabuticaba beers.

The profiles of sugars, organic acids and phenolic compounds are shown in Table 2. Beers A and B had the highest sugar concentrations (2.9 and 3.2 g/L respectively) followed by the standard (P) with 2.6 g/L, while beers C and D shown the lowest concentrations (1.8 and 2.3 g/L respectively). The sugars present are directly associated with the sensory characteristics of the beers (Li, Du, & Zhang, 2020). Maltose was the primary sugar found in the beers. Being malt derivative is the main disaccharide found in beers, formed during the mashing process by enzymatic action on starch (Li et al., 2020). As well as Li, Du, and Zhang (2020) found concentrations between 0.56 and 2.6 g/L of maltose in commercial beers. However, the concentration of fructose and glucose of the jabuticaba beers, are higher when compared to the aforementioned authors. This can be linked to the remaining sugar from the bottle's refermentation.

Table 2. Organic acid sugars and phenolic compounds content in jabuticaba beers.

Organic acids (g/L)					
	A	B	C	D	P
Citric	2.66 ± 0.02d	1.62 ± 0.00c	2.84 ± 0.02e	1.71 ± 0.01b	0.28 ± 0.00a
Malic	0.78 ± 0.01c	0.91 ± 0.00b	0.55 ± 0.00d	0.62 ± 0.00a	0.61 ± 0.00a
Succinic	1.64 ± 0.01d	2.73 ± 0.01c	1.99 ± 0.01e	2.44 ± 0.01b	3.35 ± 0.00a
Lactic	0.1 ± 0.00c	0.13 ± 0.01b	0.13 ± 0.00b	0.11 ± 0.00a	0.11 ± 0.00ac
Formic	0.24 ± 0.00d	0.36 ± 0.01c	0.31 ± 0.00e	0.41 ± 0.01b	0.48 ± 0.00a
Acetic	0.59 ± 0.00d	0.8 ± 0.03c	0.6 ± 0.00d	0.17 ± 0.00b	0.66 ± 0.00a
Propanoic	nd	0.07 ± 0.00c	0.08 ± 0.00d	0.08 ± 0.00b	0.76 ± 0.00a
Sugars (g/L)					
	A	B	C	D	P
Maltose	1.84 ± 0.01d	1.97 ± 0.01c	1.04 ± 0.00e	1.25 ± 0.01b	1.5 ± 0.01a
Glucose	0.78 ± 0.03c	1.08 ± 0.05a	0.59 ± 0.01d	0.91 ± 0.04b	1.1 ± 0.06a
Fructose	0.15 ± 0.00	nd	nd	nd	nd
Rhamnose	0.13 ± 0.00c	0.2 ± 0.02a	0.19 ± 0.00d	0.13 ± 0.00b	nd
Total	2.8992	3.248	1.8186	2.2904	2.6024

Phenolic compounds (mg/L)					
	A	B	C	D	P
Hydroxybenzoic acids					
Gallic acid	35.12 ± 0.67c	38.87 ± 0.76b	7.01 ± 0.44a	7.21 ± 0.45a	6.02 ± 0.35a
Syringic acid	0.48 ± 0.02c	0.33 ± 0.01b	nd	nd	0.17 ± 0.02a
Hydroxycinnamic acids					
p_Coumaric acid	nd	nd	nd	nd	0.14 ± 0.01
Caffeic acid	nd	0.31 ± 0.01b	nd	0.26 ± 0.01a	nd
Caftaric acid	2.59 ± 0.07c	0.48 ± 0.05b	0.2 ± 0.03a	0.31 ± 0.01a	0.29 ± 0.01a
Chlorogenic acid	7.82 ± 0.11c	nd	0.38 ± 0.00b	nd	0.87 ± 0.03a
Flavonoids					
Rutin	0.23 ± 0e	0.32 ± 0d	0.18 ± 0.01c	0.25 ± 0b	0.27 ± 0a
Catechin	5.32 ± 0.04e	3.04 ± 0.08d	1.76 ± 0.01c	0.2 ± 0.05b	16.01 ± 0.03a
Kaempferol 3ndglucoside	0.21 ± 0.00e	0.23 ± 0.00d	0.37 ± 0.01c	0.12 ± 0.00b	0.15 ± 0.01a
Myricetin	0.64 ± 0.01d	0.67 ± 0.01c	0.46 ± 0.03b	0.57 ± 0.01a	0.58 ± 0a
Epicatechin	nd	0.15 ± 0b	nd	nd	0.13 ± 0a
Quercitin 3ndGlucoside	0.39 ± 0c	0.43 ± 0.01b	nd	0.25 ± 0.01a	nd
Naringenin	1.31 ± 0.04d	0.64 ± 0.02c	0.53 ± 0.03b	0.38 ± 0.02a	nd
Epigallocatechin gallate	0.65 ± 0c	0.67 ± 0b	nd	nd	0.98 ± 0.01a
Epicatechin gallate	5.3 ± 0.11c	nd	6.81 ± 0.18b	nd	7.35 ± 0.09a
Hesperidin	5.34 ± 0.08d	2.28 ± 0.17c	1.21 ± 0.04b	0.49 ± 0.03a	nd
Tannins					
Procyanidin A2	nd	0.41 ± 0b	nd	0.42 ± 0.01a	nd
Procyanidin B1	3.77 ± 0.08d	4.34 ± 0.08c	4.85 ± 0.1b	5.08 ± 0.09b	2.7 ± 0.16a
Procyanidin B2	0.7 ± 0.05cb	0.6 ± 0.03c	0.6 ± 0.03c	0.74 ± 0.05b	1.01 ± 0.03a
Total	69.89 ± 1.14e	53.78 ± 0.59d	24.43 ± 0.82c	15.8 ± 0.39b	36.67 ± 0.57a

Nd: not detected

Results are expressed as mean (n=3) ± standard deviation. Different letters at the same row indicate difference between values at $p < 0.05$ (Tukey test).

Beers A, B are 30 and 15% jabuticaba added during boiling step respectively, C and D 30 and 15% jabuticaba added during fermentation respectively, and P without fruit.

Jabuticaba beers showed the presence of rhamnose. This sugar is found in pectin polymers and glycoproteins in the cell wall of vegetables (Kuivanen & Richard, 2016). During fermentation, the medium acidification and the microorganism's metabolism can cause rupture of the fruit peel cell walls, releasing its compounds, consequently,

rhamnose (Kuivanen & Richard, 2016), since *S. cerevisiae* is not able to consume this sugar, it remained in the final product (Choudhary, Singh, & Nain, 2017).

Malic, formic and citric acids are mainly derived from raw materials. The main organic acid in jabuticaba beers was citric acid. Beers A and C showed a concentration of 2.7 and 2.8 g/L, respectively, followed by beers B and D. Indicating that the concentration of fruit is directly related to it. Citric acid is the main organic acid found in jabuticaba followed by succinic and malic acid (Lima, Corrêa, Dantas-Barros, Nelson, & Amorim, 2011; Salomão et al., 2018) thus, by adding jabuticaba to the beer these components were bound to be at the final product.

Lactic, acetic and succinic acids are mostly produced during fermentation. Succinic acid was present in higher concentrations in beer P (3.35 g/L) followed by B (2.7 g/L), D (2.4 g/L), C (1.99) and A (1.64 g/L). Being one of the acids responsible for the balance between sweetness and acidity in beers (Tyrell & Fischer, 2014), the succinic acid can originate from raw materials however, mostly originates during alcoholic fermentation, by the tricarboxylic acid cycle during yeast metabolism and is directly related to the yeast's strain (Tyrell & Fischer, 2014). Seo et al. (2020) observed that Ale-style beers generally have a higher concentration of succinic acid.

Nineteen phenolic compounds were found in jabuticaba beers, divided into hydroxybenzoic acids (gallic and syringic acid), four hydroxycinnamic acids (p-coumaric, caffeic, caffeine and chlorogenic acids), flavonoids (rutin, catechin, myrcetin, kaempferol 3-glucoside, epicatechin, quercetin 3-glucoside, naringenin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate and hesperetin). And three tannins (Procyanidin A2, B1 and B2).

The phenolic compounds present in beers are directly related to the quantity and quality of the raw materials used in their production (Nardini & Garaguso, 2020). The main phenolic compound found in jaboticaba beers was gallic acid. In agreement with Moura-Nunes et al. (2016) that gallic acid was the main phenolic compound in commercial Serbian and Brazilian beers with values between 0.5 and 14.3 mg/L. Much lower than the concentration in jaboticaba beers A (35.12 mg/L) and B (38.9 mg/L). Gallic and ellagic acids are the results of the depolymerization of ellagitannins and galotannins present in the matrix (Based et al., 2006). These compounds are widely found in jaboticaba and present in larger quantities in its peel and seeds (Benvenuti et al., 2021).

Inada et al. (2018) observed a higher concentration of phenolic compounds in jaboticaba juices obtained by steam extraction when compared to cold extracted juice by Wu et al. (2012). Inada et al. (2018) also notice the development of gallic and ellagic acids during juice storage, in addition, stated that depolymerization is nutritionally positive since ellagitannins and gallotannins are not absorbed by humans when intact. As well as Inada et al. (2018) the highest extraction of phenolic compounds was in beers added with jaboticaba during boiling, demonstrating a high extraction rate at higher temperature (100 °C).

Malt and hops are the main sources of catechins, gallocatechin and epigallocatechin and kaempferol (Baigts-Allende et al., 2021). Catechin was observed in all beers ranging from 0.2 to 16 mg/L and the standard sample was the one with the highest concentration of this compound (16 mg/L), within the results found by Baigts-Allende et al. (2021) who observed the concentration of catechin in beers with and without fruit from 0 to 298 mg/L). Procyanidin B1 is a procyanidin formed by the beta 4-8 bond between epicatechin and catechin commonly present in greater concentration in the seeds and peel of fruits such as açai, grape and jaboticaba (Marsiglia et al., 2021). In

the Jabuticaba beers, its concentration ranged from 2.7 to 5.0 mg/L. The beers C and D recorded the highest concentrations.

Hesperidin and naringenin are flavanones commonly found in citrus fruits such as lemon and orange (Yumol & Ward, 2018). Marsiglia et al. (2021) determined its high concentration in jabuticaba peel powder infusion. In the present study, the beers added jabuticaba during boiling (A and B) showed the highest concentration of hesperidin (5.3 and 2.3 mg/L) and naringenin (1.3 and 0.6 mg/L). Probably deriving from jabuticaba peels.

3.3 Total polyphenol content (TPC) and antioxidant activity assays

Antioxidant activities and total phenolic compounds (TPC) measured in jabuticaba beers are exposed in Table 3. The addition of jabuticaba in the beers increased the total phenolics. Ranging from 0.62 to 1.06 mg GAE/mL of beer. Beers A and B had the highest concentrations of phenolics compounds when compared to samples C and D. Beer P had the lowest result for TPC. This was expected since the addition of fruit to beer tends to increase the concentration of total phenolic compounds (Gasiński et al., 2020; Nardini & Garaguso, 2020; Zapata et al., 2019). Nardini and Garaguso (2020) observed a TPC ranging from 0.40 to 0.77 mg GAE/mL in commercial fruit beers, along with others studies (Ducruet et al., 2017; Gasiński et al., 2020; Kawa-Rygielska et al., 2019). The jabuticaba beers produced in this study had a high concentration of TPC when compared to analogous.

Table 3 – Antioxidant activity and total phenolic compounds (TPC) of the jabuticaba beers.

	Antioxidant Activity (mmol TE/L)			Total phenolic compounds mg GAE/mL
	DPPH •	FRAP	ORAC	TPC
A	8.86±0.36c	8.07±0.14d	5.95±0.14b	1.06±0.02d
B	5.48±0.07b	5.56±0.2c	9.44±0.8c	0.81±0.02c
C	3.09±0.26a	1.58±0.18b	2.81±0.24d	0.86±0.03c
D	2.93±0.14a	1.76±0.21b	5.81±0.51b	0.66±0b
P	3.34±0.31a	0.69±0.09a	4.07±0.19a	0.58±0.01a

Results are expressed as mean (n=3) ± standard deviation. Different letters in the same columns indicate a difference between values at $p < 0.05$ (Tukey test)..

Beers A, B are 30 and 15% jabuticaba added during boiling step respectively, C and D 30 and 15% jabuticaba added during fermentation respectively, and P without fruit.

The antioxidant activity of the studied beers was measured by DPPH•, FRAP and ORAC assays. The results of the DPPH• assay ranged from ~3.0 to 8.86 mmol TE/L, with beers C, D and P being equals with the lowest values, followed by B (5.48 mmol TE/L), and sample A (8.86mmolTE/L). While FRAP assay, the results vary between 0.7 and 8.07 mmol TE/L) where beer P obtained the lowest value, followed by samples C and D (~1.67 mmol TE/L) and beer A. As for the ORAC assay the results varied from 2.81 to 9.44 where the lowest score was from beer C followed by P (4.07 mmol TE/L), A and D (~5.88 mmol TE/L) and beer B with the highest result.

The addition of jabuticaba increased the antioxidant activity of the beer, a similar result was observed by Nardini and Garaguso (2020) who reported the highest antioxidant activity in commercial beers added to fruits ranging from 1.62 to 3.53 mmol TE/L for ABTS assay and 3.08 to 9.76 mmol Fe⁺²/L for FRAP. Moura-Nunes et al. (2016) also studied the antioxidant activity in several Brazilian beers with results ranging from 0.40 to 3.02 mmol TE/L for the ABTS assay and from 1.5 to 4.7 mmol Fe⁺²/L for FRAP assay. While the ORAC assay performed by Granato, (2011) in Brazilian commercial beers

143 ranged from 0.4 to 10.5 mmol TE/L. Therefore, the antioxidant activity of jabuticaba
144 beers is in accordance with the literature.

145 The greater antioxidant capacity was observed in the beers where jabuticaba
146 berries were added at the boiling step. The same was observed by Ducruet et al. (2017)
147 in the addition of goji berries during different stages of amber beer production. This
148 characteristic is related to the greater extraction of antioxidant compounds from the fruit
149 when exposed to high temperatures.

150 *3.4 Volatile composition of jabuticaba beers.*

151 Ninety-four volatile compounds were found in the studied beers, divided into 10
152 chemical classes: terpenes (29 compounds), esters (22 compounds) followed by
153 hydrocarbons (12 compounds), alcohols (11 compounds), fatty acids (7 compounds)
154 phenols (2 compounds), alkanes, acid and carboxylic ester (one compound each).
155 Analysis revealed 8 other peaks that could not be identified. The volatile compounds are
156 listed in Table 4.

Table 4. Relative abundance (% of total area) of volatile compounds along with CAS, RI [Lit. = Literature (NIST National Institute of Standards and Technology, 2021) and Cal. = experiment] and chemical classification identified in jabuticaba beers.

Peak	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	A	B	C	D	P
						(%)				
1	Ethyl butanoate	105-54-4	802	803	Esters	0.016±0.002	0.006±0.002	0.035±0.024	0.021±0.007	0.01±0.006
2	Isoamyl acetate	123-92-2	876	875	Esters	0.545±0.058b	0.318±0.073b	1.635±0.669a	0.81±0.281ab	1.605±0.284a
3	Ethyl hexanoate	123-66-0	1000	1002	Esters	0.173±0.044b	0.215±0.108b	0.198±0.101b	0.256±0.077b	1.181±0.148a
4	Hexanoic acid	142-62-1	1011	1018	Fatty acid	0.054±0.045a	0.019±0.001a	0.193±0.044b	nd	0.091±0.017a
5	Eucalyptol	470-82-6	1030	1030	Terpene	0.015±0.005	nd	nd	nd	nd
6	1ndOctanol	111-87-5	1071	1075	Fatty alcohol	0.033±0.006b	0.014±0.001b	nd	0.024±0.007b	0.026±0.001a
7	Linalool	78-70-6	1099	1100	Terpene alcohol	0.109±0.003	0.293±0.245	0.339±0.098	0.356±0.186	0.1±0.004
8	βndPhenethyl alcohol	60-12-8	1116	1117	Alcohol	10.456±1.409c	11.059±0.773c	19.646±1.037d	16.538±1.104b	6.73±0.974a
9	Ethyl benzoate	93-89-0	1171	1165	Esters	0.026±0.003a	0.036±0.046a	0.203±0.08b	0.104±0.017ab	0.027±0.007a
10	Terpinennd4ndol	562-74-3	1177	1171	Terpene	0.152±0.042b	0.016±0.002a	0.097±0.009b	0.116±0.028b	0.02±0.005a
11	Ethyl succinate	123-25-1	1182	1176	Esters	nd	nd	0.022±0.005	nd	nd
12	Octanoic acid	124-07-2	1180	1179	Fatty acid	nd	nd	nd	0.031±0.017	nd
13	αndTerpineol	98-55-5	1189	1184	Terpene	0.365±0.048	nd	nd	nd	nd
14	Ethyl octanoate	106-32-1	1196	1191	Fatty acid ethyl ester	44.778±2.217c	46.167±0.501c	15.254±2.477d	5.983±0.905b	25.031±1.215a
15	Citronellol	106-22-9	1228	1222	Terpene	0.297±0.038c	0.16±0.006b	0.344±0.045c	0.655±0.036a	0.676±0.087a
16	Ethyl phenylacetate	101-97-3	1246	1243	Esters	nd	nd	0.036±0.004b	nd	0.003±0a
17	βndPhenethyl acetate	103-45-7	1258	1256	Esters	8.551±0.808c	9.792±0.526c	19.937±2.975d	13.874±1.261b	4.285±0.244a
18	NI		nd	1262		0.163±0.016b	0.358±0.015a	nd	nd	0.388±0.044a

Peak	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	A	B	C	D	P	
						(%)					
19	1ndDecanol	112-30-1	1273	1270	Fatty alcohol	0.097±0.011	0.116±0.096	0.109±0.022	0.106±0.005	0.113±0.004	
20	Nonanoic acid	112-05-0	1273	1277	Fatty acid	0.009±0.002bc	0.008±0.003c	0.021±0.006b	0.028±0.009b	0.004±0ac	
21	Propyl octanoate	624-13-5	1286	1290	Esters	0.007±0.001b	0.007±0b	nd	0.017±0.002b	0.056±0.014a	
22	Ethyl nonanoate	123-29-5	1290	1297	Fatty acid ethyl ester	0.009±0.006a	0.004±0.001a	nd	0.05±0.064a	0.06±0.021a	
23	2ndUndecanol	1653-30-1	1299	1308	Fatty alcohol	0.008±0.004	nd	nd	nd	nd	
24	4ndVinylguaicol	7786-61-0	1317	1315	Phenol	0.163±0.017a	0.356±0.016b	nd	nd	0.388±0.044b	
25	Methyl geranoate	1189-09-9	1320	1324	Monoterpenoid	0.007±0.003b	nd	nd	0.012±0.004b	0.025±0.001a	
26	Ethylphenyl propanoate	2021-28-5	1353	1350	Carboxylic acid	0.019±0.002b	0.032±0.014a	0.028±0.009b	0.044±0.003a	0.07±0.028a	
27	Citronellol acetate	150-84-5	1354	1354	Terpene	0.008±0.001c	nd	0.022±0.009b	0.026±0.002b	0.08±0.004a	
28	γndNonalactone	104-61-0	1363	1364	Aldehyde	0.078±0.013ac	0.091±0.001c	0.109±0.017cb	0.135±0.027b	0.047±0.002a	
29	9ndDecenoic acid		1380	1386	Fatty acid	0.541±0.082	nd	nd	nd	nd	
30	Ethyl 9nddecenoate	67233-91-4	1387	1390	Fatty acid ethyl ester	10.14±1.612c	19.056±1.205b	14.731±2.292d	17.902±0.848bd	32.331±1.686a	
31	Ethyl decanoate	110-38-3	1396	1399	Fatty acid ethyl ester	4.577±6.149d	3.927±1.109c	17.128±2.572a	27.454±1.916b	13.151±1.792a	
32	Tetradecane	629-59-4	1400	1400	Alkane	nd	0.036±0.024	nd	nd	nd	
33	Dodecanal	112-54-9	1409	1410	Longndchain fatty acid aldehyde	nd	nd	0.027±0.003	nd	nd	
34	Caryophyllene	87-44-5	1419	1421	Terpene	0.038±0.007	0.045±0.059	0.044±0.012	0.088±0.027	nd	
35	Aromandendrene	489-39-4	1440	1443	Terpene	0.062±0.008b	0.015±0.003a	0.052±0.012b	nd	nd	
36	Isoamyl octanoate	2035-99-6	1446	1448	Fatty acid ester	0.054±0.018b	0.152±0.038ab	0.209±0.066a	0.266±0.052a	nd	

Peak	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	A	B	C	D	P	
						(%)					
37	2ndMethylbutyl octanoate	67121-39-5	1449	1451	Fatty esters	0.006±0.003c	0.027±0.006cd	0.043±0.016d	0.061±0.015b	nd	
38	Geranyl acetone	3796-70-1	1453	1456	Terpene	0.033±0.005	0.046±0.019	0.055±0.007	nd	nd	
39	αndHumulene	6753-98-6	1454	1458	Terpene	0.049±0.01b	0.03±0.008b	0.067±0.014b	0.285±0.069a	nd	
40	Alloaromadendrene	68832-35-9	1461	1464	Terpene	0.017±0.008a	nd	0.006±0.004a	nd	nd	
41	(E)ndEthyl cinnamate	4192-77-2	1463	1467	Carboxylic ester	0.022±0.002a	nd	0.119±0.012b	0.094±0.016b	0.005±0.001a	
42	1ndDodecanol	112-53-8	1473	1475	Fatty alcohol	0.058±0.017ac	0.051±0.016ac	0.101±0.013c	0.222±0.038b	0.026±0.001a	
43	γndMuurolene	30021-74-0	1477	1479	Terpene	0.351±0.053c	0.084±0.005b	0.058±0.006a	0.003±0.001a	0.009±0.001a	
44	βndSelinene	17066-67-0	1486	1490	Terpene	0.191±0.039b	0.032±0.001ac	0.062±0.008c	0.056±0.005ac	0.01±0.008a	
45	βndGuaiene	88-84-6	1490	1495	Terpene	0.058±0.006b	0.023±0.002a	nd	0.051±0.003b	0.027±0.004a	
46	αndSelinene	473-13-2	1494	1498	Terpene	0.228±0.025c	0.043±0.002ba	0.088±0.009d	0.076±0.013bd	0.017±0.001a	
47	βndBisabolene	495-61-4	1509	1510	Terpene	0.02±0.006a	0.007±0.003b	0.028±0.011a	0.011±0.001b	0.017±0.002a	
48	2.4nddindndButylphenol	96-76-4	1519	1514	Phenol	0.026±0.005	nd	0.016±0.004	0.028±0.012	0.014±0.001	
49	δndCadinene	483-76-1	1524	1527	Terpene	0.043±0.005a	0.021±0.006a	0.022±0.016a	0.086±0.025b	0.011±0a	
50	Cubenene	29837-12-5	1533	1536	Terpene	0.031±0.007b	0.01±0.002a	0.019±0.008ab	0.028±0.003b	0.012±0.006a	
51	Decane. 5ndphenyl	4537-11-5	1535	1539	Hydrocarbon	0.094±0.022bc	0.068±0.003ac	0.097±0.016bc	0.117±0.011b	0.038±0.006a	
52	Decane. 4ndphenylnd	4537-12-6	1546	1542	hydrocarbon	0.057±0.008ac	0.094±0.03c	0.013±0.007a	0.164±0.026b	0.012±0.015a	
53	Elemol	639-99-6	1549	1553	Terpene	0.12±0.006c	0.013±0.005b	nd	0.016±0.007ab	0.029±0.004a	
54	Nerolidol	142-50-7	1550	1555	Terpene	0.27±0.032bc	nd	0.239±0.022c	0.334±0.032b	0.115±0.015a	
55	Dodecanoic acid	143-07-7	1568	1571	Fatty acid	nd	nd	nd	0.286±0.014	nd	

Peak	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	A	B	C	D	P	
						(%)					
56	Caryophyllenyl alcohol	913176-41-7	1568	1575	Alcohol	0.096±0.011c	0.045±0.002b	nd	0.062±0.002b	0.02±0.006a	
57	Spathulenol	6750-60-3	1576	1581	Terpene	0.059±0.004b	0.011±0.004a	0.028±0.005c	0.023±0.009ac	0.011±0.004a	
58	Globulol	489-41-8	1580	1588	Terpene	0.181±0.035c	0.03±0.008b	0.061±0.006bc	0.101±0.024bc	0.505±0.117a	
59	NI		nd	1590		0.545±0.057b	0.319±0.073b	1.629±0.671a	0.679±0.143b	1.601±0.283a	
60	Ethyl dodecanoate	106-33-2	1595	1596	Esters	0.302±0.12b	1.735±0.586b	2.841±0.254c	6.129±0.519ac	7.04±0.999a	
61	Decane, 2-phenyl-	4537-13-7	1607	1601	hydrocarbon	0.096±0.018c	0.045±0.008b	0.06±0.01b	0.037±0.004ab	0.014±0.004a	
62	NI		nd	1607		0.007±0.003b	nd	nd	0.012±0.004b	0.025±0.001a	
63	NI		nd	1615		0.234±0.042c	nd	0.237±0.023c	0.334±0.032b	0.115±0.015a	
64	NI		nd	1625		nd	nd	nd	nd	0.047±0.014	
65	Epicubenol	19912-67-5	1627	1633	Terpene	0.181±0.025c	0.057±0.003a	0.16±0.011bc	0.135±0.009b	0.039±0.002a	
66	γ-Eudesmol	1209-71-8	1630	1637	Terpene	5.101±0.132c	1.256±0.459b	0.511±0.061a	0.564±0.049a	0.106±0.008a	
67	Cubenol	21284-22-0	1642	1646	Terpene	0.482±0.062b	0.168±0.023a	0.431±0.076b	0.397±0.032b	0.213±0.049a	
68	δ-Cadinol	19435-97-3	1645	1651	Alcohol	0.091±0.011b	nd	0.016±0.005a	0.02±0.006a	nd	
69	β-Eudesmol	473-15-4	1649	1656	Terpene	1.586±0.093c	0.263±0.045b	0.216±0.028b	0.257±0.025b	0.023±0.001a	
70	α-Eudesmol	473-16-5	1653	1660	Terpene	1.936±0.172c	0.369±0.055b	0.38±0.056b	0.35±0.081b	0.065±0.003a	
71	3-Phenylundecane	4536-87-2	1667	1667	hydrocarbon	nd	nd	0.064±0.018	nd	nd	
72	Tetradecanol	112-72-1	1676	1676	Fatty alcohol	nd	0.023±0	nd	nd	nd	
73	Cadalene	483-78-3	1674	1679	hydrocarbon	0.016±0.003	nd	0.016±0.014	0.02±0.008	0.004±0.001	
74	Diethyl nonanedioate	624-17-9	1688	1689	Esters	nd	nd	nd	0.047±0.002	nd	
75	2,3-Dihydrofarnesol	51411-24-6	1696	1691	Alcohol	0.091±0.014d	0.036±0.008c	0.012±0.002a	0.045±0.005b	0.012±0.004a	

Peak	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	A	B	C	D	P
						(%)				
76	2-Phenylundecane	4536-88-3	1708	1703	hydrocarbon	0.024±0.007	0.025±0.001	0.032±0.002	0.025±0.004	nd
77	NI		nd	1712		0.152±0.042b	0.016±0.002a	0.077±0.029a	0.065±0.019a	0.02±0.005a
78	(E)-Farnesol	106-28-5	1722	1724	Terpene	nd	nd	nd	0.059±0.002	nd
79	6-Phenyldodecane	2719-62-2	1726	1730	hydrocarbon	0.036±0.008c	0.053±0.016c	0.059±0.004c	0.163±0.006b	0.012±0.002a
80	5-Phenyldodecane	2719-63-3	1730	1736	hydrocarbon	0.02±0.003ca	0.017±0.007ca	0.023±0.009bc	0.039±0.006b	0.004±0.002a
81	4-Phenyldodecane	2719-64-4	1742	1747	hydrocarbon	0.009±0.004b	0.01±0b	0.016±0.004ab	0.022±0.006a	nd
82	NI		nd	1758		0.049±0.01b	0.03±0.008b	0.068±0.014b	0.284±0.069a	nd
83	3-Phenyldodecane	2400-00-2	1766	1768	hydrocarbon	nd	0.01±0.003	nd	nd	nd
84	Z-9-Tetradecenoic acid	544-64-9	1783	1782	Fatty acid	nd	0.089±0.023	nd	nd	nd
85	Ethyl tetradecanoate	124-06-1	1794	1795	Esters	0.146±0.016c	0.323±0.014b	0.439±0.072ab	0.523±0.067a	0.465±0.026a
86	Octadecane	593-45-3	1800	1799	hydrocarbon	nd	0.011±0.008	nd	nd	nd
87	2-Phenyldodecane	2719-61-1	1808	1806	hydrocarbon	nd	0.01±0.001b	nd	nd	nd
88	Farnesyl acetate	4128-17-0	1843	1843	Alcohol	0.012±0.01b	0.014±0.004b	0.029±0.017b	0.067±0.014a	nd
89	2-Phenethyl octanoate	5457-70-5	1851	1849	Esters	0.009±0.01a	0.063±0.003cb	0.049±0.008ac	0.105±0.042b	0.033±0.005ac
90	NI			1866		5.101±0.132d	1.488±0.086c	0.569±0.048b	0.566±0.048b	0.106±0.008a
91	1-Hexadecanol	36653-82-4	1880	1880	Alcohol	0.015±0.002ab	0.046±0.018a	0.16±0.058b	0.107±0.091a	0.009±0.002ab
92	Ethyl pentadecanoate	41114-00-5	1894	1894	Esters	0.029±0.005b	0.095±0.02a	nd	0.063±0.005ac	0.04±0.009ac
93	Ethyl 9-hexadecenoate	54546-22-4	1977	1974	Esters	0.094±0.043c	0.041±0.013c	nd	1.244±0.105b	1.941±0.279a
94	Ethyl hexadecanoate	628-97-7	1993	1994	Esters	0.074±0.003c	0.454±0.033bd	0.369±0.029d	0.644±0.051ab	0.705±0.177a

160 Nd: not detected

161 Results are expressed as mean (n=3) $\pm$ standard deviation. Different letters at the same row indicate difference between values at $p < 0.05$ (tukey test).

162 Beers A. B are 30 and 15% jabuticaba added during boiling step respectively. C and D 30 and 15% jabuticaba added during fermentation respectively. and P without fruit.

Figure 1 is the graph containing the ten highest relative areas of volatile compounds found for each beer is studied. The highest peaks found for each sample were: ethyl octanoate (samples A and B ~ 45.5%), 9-decectonate (sample P ~ 32%), β -phenethyl acetate (samples C~20%) and ethyl decanoate (sample B ~27%). Another relevant compound found in all samples was β -phenethyl alcohol, ranging from 4 to 19%. Widely present in beers. Despite the different area % of the most compounds, all samples contain them significantly.

Fig. 1 Ten most present volatiles compounds in jabuticaba beers

Esters; β -phenethyl acetate, ethyl octanoate, 9-decectonate and decanoate are the compounds with the largest relative areas found in the samples. Mainly developed during fermentation, the esters are divided into two main groups: acetic esters (formed by the condensation between ethanol/higher alcohol and enzymatically catalyzed acetic acid) and ethyl esters (catalyzed by Acetyl-CoA, ethanol and medium-chain fatty acid)(Shopska, Denkova, Lyubenova, & Kostov, 2019). The esters found contribute to the sweet, fruity and floral aroma of the beers(Gonzalez Viejo, et al., 2019).

β -phenethyl acetate is related to the floral aroma of roses (Alves et al., 2020). It was mostly found in beers produced with jabuticaba. The samples C (~20%) and D (14%) followed A and B (both ~9%) and the control (P) with ~4 %. Alves et al. (2020) observed the formation of β -phenethyl acetate during beer production, in fermentation at 14 °C (highest temperature studied). Gasiński et al. (2020) and Zapata et al. (2019) also found β -phenethyl acetate in beers produced with mango and quince fruit respectively, similarly E. Coelho et al. (2019) for cask-aged dark strong ale beers.

Ethyl octanoate was the major volatile in jabuticaba beers A and B representing ~45% of the total area, followed by P with 25%, C and D with 15 and 6%. Gasiński et al.

(2020) observed a higher concentration of ethyl octanoate in mango beers during fermentation when compared to control beer. While the main compound found by Zapata et al. (2019) for beers with added quince was ethyl octanoate. As well, Gonzalez Viejo et al. (2019) characterizes this compound as one of the main aromas in top-fermented beer, being present in all commercial beers studied with an area % of 4.96 – 46.7%. Alves et al. (2020) describe that ethyl octanoate is one of the most relevant components during beer production.

Ethyl decanoate was more present in samples D and C with ~25 and 17% respectively, followed by P with 13% and A and B with ~ 4%. Gonzalez Viejo et al. (2019) found ethyl decanoate in commercial top-fermented beers oscillating from ~3 to ~42% of % area, being the second most present volatile compound. Ethyl decanoate was also observed in beers with added fruit, aged and fermented by conventional and unconventional yeasts (E. Coelho et al., 2019; Gasiński et al., 2020; Zapata et al., 2019).

Of the beers produced, those with jabuticaba presented the largest areas of β -phenethyl alcohol. Where samples C (19%) and D (16%) followed by A (10%) and B (11%) and finally P (6%). β -phenethyl alcohol is one of the main higher alcohols found in beers (Gonzalez Viejo et al., 2019) is characterized by a sweet herbal aroma that masks the flavor of dimethyl sulfide (DMS) and can be produced by yeasts by metabolizing the amino acid L-phenylalanine (Gasiński et al., 2020; Gonzalez Viejo et al., 2019; Shopska et al., 2019).

Both esters and higher alcohols are metabolic typical of *Saccharomyces* yeasts and found in the vast majority of top-fermented beers (Alves et al., 2020; E. Coelho et al., 2019; Gasiński et al., 2020; Gonzalez Viejo et al., 2019; Zapata et al., 2019).

The jabuticaba beers had mostly fruity aromas, such as apple and pear, along with sweet, floral, spice and herbal aromas.

Compounds such as linalool, α -selinene, β -selinene, γ -muurolene, δ -cadinene were found in all beers, while methyl geranate (A, D and P), α -humulene (A, B, C and D) and α -terpineol (A) were observed dispersed among the samples, Duarte, et al. (2020) relate these volatiles hops. Among these compounds, the most present in jabuticaba beers is linalool and its proportional area does not differ between the samples which, despite being small in quantity, gives the beer a citrus aroma (Duarte et al., 2020).

Many of the aromas present in beers that are related to hops are also found in jabuticabas. Linalool, α -selinene, β -selinene, δ -cadinene and α -humulene (FREITAS et al., 2020), therefore one can notice a higher area % of these compounds in beers with jabuticaba. Other compounds linked to jabuticabas are also present in the studied beers. Such as β -eudesmol, α -eudesmol, cubenol and γ -cadinene which mostly add woody and herbal aromas (Freitas et al., 2020).

3.5 Principal components analysis (PCA)

The principal physicochemical components of jabuticaba beers are in Figure 2a. The principal component 1 (PC 1) represents 44% of the data variation while the principal component 2 (PC2) represents 34%, totaling 78%. PC1 was represented by IBU (FL = -0.89) on the negative side and TPC (FL = 0.95) on the positive side. As for PC2, the positive side was represented by alcohol content (FL = 0.96) and the negative side by pH (FL = -0.86). Furthermore, in Figure 2a, the beers are clusters in three groups; Beer P is isolated and represented by a higher concentration of catechin, succinic acid and IBU; while A and B are characterized by higher °Brix, antioxidant activity, gallic acid and chlorogenic acid; as per C and D are on the positive axis of PC2, they are represented by

the higher alcohol content, procyanidin B1. The clusters of beers can be explained by the process step where the jabuticaba was added.

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) showing a) physicochemical parameters and b) volatiles compounds. X-axes represent the principal component one (PC1), while y-axes represent the principal component (PC2)

Figure 2b shows the graph referring to the analysis of principal components for volatile compounds. Main component one (PC1) represents 51% of the variation between beers while main component 2 (PC2) accounts for 30% for a total of 81%. Where PC1 was represented on its positive axis mostly by ethyl dodecanoate (FL = 0.97) and the negative side by γ -eudesmol (FL= -0.87). The main representatives of PC2 on the positive side were phenethyl alcohol (FL=0.98) and phenethyl acetate (FL=0.99) while the negative side of PC2 was represented by ethyl hexanoate (FL=-0.63). The clusters are; samples A and B are represented by γ and α -eudesmol together with ethyl octanoate; beers C and D were characterized as phenethyl alcohol, phenethyl acetate and decanoate; sample P aligned with 9-hexadecanoate, 9-Zecanoate, ethyl hexanoate.

3.6 Focal group

The most used words to describe the beers are in Table 5. Jabuticaba beers were characterized with green leafy and fruity aroma, sour and astringent flavor with a low to medium body and high carbonation. The astringency is related to tannins and small phenolic compounds in the beers (Ma et al., 2014) which are most present in jabuticaba beers as can be seen in Item 3.2. This astringency was perceived as a bitter after taste in the middle of the tongue and contributed to a great drinkability. The preferred beer was C since it showed the best balance between sour/sweet, fruity flavor and green aroma.

257

258 **Table 5.** Most frequent words used to describe jabuticaba beers during the focus group.

	A	B	C	D	P
Appearance	Coppery yellow. intense foam with low persistence and heterogeneous bubbles. low turbidity and high carbonation.	Orange-yellow. persistent foam with small bubbles. low turbidity. high carbonation.	Copper brown. persistent creamy foam with small bubbles. high turbidity. super carbonated.	Orange-brown. intense foam with low persistence. small bubbles. high turbidity. super carbonated.	Golden orange. creamy foam with heterogeneous bubbles and soapy appearance. clear and high carbonation.
Aroma	Fruity green leaves and peels. spicy. floral. solvent (higher alcohol).	Yeasty (bread). spicy. solvent (higher alcohol).	Intense green leaves and peel. biscuit. floral. fruity. sweet. spicy. intense jabuticaba.	Green leaves and peel. fruity sour. herbal. spicy. earthy.	Malt. spiced (cloves). sweet. biscuit. spicy.
Flavor	Sour. astringent. light bitterness. floral. herbal. sweet and high drinkability	Sour. spicy. astringent herbal	Sour. Fruity (jabuticaba). persistent astringency. sweet. high drinkability.	High sourness. spicy. persistent astringency. floral. fruity. sweetish. high drinkability.	Sweet. spicy. alcohol (heat). bitterness (hops). commercial wit beer.
Mouth feeling	Medium to low body. high carbonation	Medium to low body. high carbonation	Medium body. medium carbonation	Medium body. medium carbonation	Medium to low body. high carbonation

259 Beers A. B are 30 and 15% jabuticaba added during oiling step respectively. C and D 30 and 15% jabuticaba added during fermentation respectively. and P without fruit

Conclusions

At the end of the study, the addition of jabuticaba changed the physicochemical and sensory characteristics of the beer allowing a higher antioxidant activity, different phenolics and volatile compounds to emerge and an interesting flavor profile. It was noticeable the influence of the brewing technology. Beers, where jabuticaba was added during the boil, presented higher antioxidant activity, gallic acid and ethyl octanoate concentration while the ones added during the fermentation, have a higher concentration of procyanidin B1, phenethyl alcohol and phenethyl acetate. In addition, the preferred formulation was Beer C.

Acknowledgments

The authors thank CAPES for partial funding this study (Finance code 001) and financial support and scholarship awarded to the first author (M. P. Carvalho).

References

- Alves, V., Gonçalves, J., Figueira, J. A., Ornelas, L. P., Branco, R. N., Câmara, J. S., & Pereira, J. A. M. (2020). Beer volatile fingerprinting at different brewing steps. *Food Chemistry*, 326, 126856. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126856>
- AOAC. (2016). *Official methods of analysis* (20th ed.). Gaithersburg: AOAC Intl.
- Baigts-Allende, D. K., Pérez-Alva, A., Ramírez-Rodrigues, M. A. M. M., Palacios, A., & Ramírez-Rodrigues, M. A. M. M. (2021). A comparative study of polyphenolic and amino acid profiles of commercial fruit beers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 100, 103921. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103921>

- Based, D., Some, C., Mingshu, L., Kai, Y., Qiang, H., & Dongying, J. (2006). Biodegradation of gallotannins and ellagitannins. *Journal of Basic Microbiology*, 46(1), 68–84. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510600>
- Benvenuti, L., Zielinski, A. A. F., & Ferreira, S. R. S. (2021). Jaboticaba (Myrtaceae cauliflora) fruit and its by-products: Alternative sources for new foods and functional components. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 118–136. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.044>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995, January 1). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 28, pp. 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Choudhary, J., Singh, S., & Nain, L. (2017). Bioprospecting thermotolerant ethanologenic yeasts for simultaneous saccharification and fermentation from diverse environments. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 123(3), 342–346. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.10.007>
- Coelho, E. M., da Silva Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Sá, A. G. B., Pereira, G. E., de Azevêdo, L. C., & dos Santos Lima, M. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.017>
- Coelho, E., Magalhães, J., Pereira, F. B., Macieira, F., Domingues, L., & Oliveira, J. M. (2019). Volatile fingerprinting differentiates diverse-aged craft beers. *LWT*, 108, 129–136. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.03.044>
- De Andrade Neves, N., Stringheta, P. C., Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I., Neves, N. de A., Stringheta, P. C., ... Hermosín-Gutiérrez, I. (2018). Flavonols and

ellagic acid derivatives in peels of different species of jabuticaba (*Plinia* spp.)

identified by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Food Chemistry*, 252, 61–71.

<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.01.078>

Donado-Pestana, C. M., Moura, M. H. C., de Araujo, R. L., de Lima Santiago, G., de Moraes Barros, H. R., & Genovese, M. I. (2018). Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. *Current Opinion in Food Science*, 19, 42–49.

<https://doi.org/10.1016/J.COFS.2018.01.001>

Duarte, L. M., Amorim, T. L., Grazul, R. M., & de Oliveira, M. A. L. (2020).

Differentiation of aromatic, bittering and dual-purpose commercial hops from their terpenic profiles: An approach involving batch extraction, GC–MS and multivariate analysis. *Food Research International*, 138, 109768.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109768>

Ducruet, J., Rébénague, P., Diserens, S., Kosińska-Cagnazzo, A., Héritier, I., &

Andlauer, W. (2017). Amber ale beer enriched with goji berries – The effect on bioactive compound content and sensorial properties. *Food Chemistry*, 226, 109–118. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.01.047>

Freitas, T. P., Taver, I. B., Spricigo, P. C., Do Amaral, L. B., Purgatto, E., & Jacomino, A. P. (2020). Volatile compounds and physicochemical quality of four jabuticabas (*Plinia* sp.). *Molecules*, 25(19), 4543. <https://doi.org/10.3390/molecules25194543>

Gasiński, A., Kawa-Rygielska, J., Szumny, A., Czubaszek, A., Gąsior, J., & Pietrzak, W. (2020). Volatile Compounds Content, Physicochemical Parameters, and Antioxidant Activity of Beers with Addition of Mango Fruit (*Mangifera Indica*). *Molecules*, 25(13), 3033. <https://doi.org/10.3390/molecules25133033>

- Gonzalez Viejo, C., Fuentes, S., Torrico, D. D., Godbole, A., & Dunshea, F. R. (2019). Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. *Food Chemistry*, 293, 479–485.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.04.114>
- Granato, D., Branco, G. F., Faria, J. D. A. F., & Cruz, A. G. (2011). Characterization of Brazilian lager and brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 563–571. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4222>
- Inada, K. O. P., Duarte, P. A., Lapa, J., Miguel, M. A. L., & Monteiro, M. (2018). Jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) juice obtained by steam-extraction: phenolic compound profile, antioxidant capacity, microbiological stability, and sensory acceptability. *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 52–61.
<https://doi.org/10.1007/s13197-017-2769-3>
- Kawa-Rygielska, J., Adamenko, K., Kucharska, A. Z., Prorok, P., & Piórecki, N. (2019). Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. *Food Chemistry*, 281, 147–153.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.12.093>
- Kuivanen, J., & Richard, P. (2016). Engineering a filamentous fungus for l-rhamnose extraction. *AMB Express*, 6(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0198-8>
- Li, M., Du, J., & Zhang, K. (2020). Profiling of carbohydrates in commercial beers and their influence on beer quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 3062–3070. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10337>
- Lima, A. de J. B., Corrêa, A. D., Dantas-Barros, A. M., Nelson, D. L., & Amorim, A. C. L. (2011). Sugars, organic acids, minerals and lipids in Jabuticaba. *Revista*

Brasileira de Fruticultura, 33(2), 540–550. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452011000200026>

- Ma, W., Guo, A., Zhang, Y., Wang, H., Liu, Y., & Li, H. (2014). A review on astringency and bitterness perception of tannins in wine. *Trends in Food Science & Technology*, 40(1), 6–19. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2014.08.001>
- Marsiglia, W. I. M. de L., Oliveira, L. de S. C., Santiago, Â. M., Araújo, V. S., Melo, B. C. A. de, Almeida, R. L. J., & Santos, N. C. (2021). Evaluation of bioactive compounds in an infused drink prepared from the powder of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15731. <https://doi.org/10.1111/JFPP.15731>
- Moura-Nunes, N., Brito, T. C., Fonseca, N. D. da, de Aguiar, P. F., Monteiro, M., Perrone, D., & Torres, A. G. (2016). Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 199, 105–113. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.11.133>
- Nardini, M., & Garaguso, I. (2020). Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. *Food Chemistry*, 305, 125437. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125437>
- Neri-Numa, I. A., Soriano Sancho, R. A., Pereira, A. P. A., & Pastore, G. M. (2018). Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. *Food Research International*, 103, 345–360. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.10.053>
- O’Sullivan, M. G. (2020). Quantitative and qualitative affective methods for reformulation. *Salt, Fat and Sugar Reduction*, 167–182.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819741-7.00007-9>

- Olas, B., & Bryś, M. (2020). Beer components and their beneficial effect on the hemostasis and cardiovascular diseases— truth or falsehood. *Food and Chemical Toxicology*, 146, 111782. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111782>
- Padilha, C. V. da S., Miskinis, G. A., de Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., & Lima, M. dos S. (2017). Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food Chemistry*, 228, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.137>
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S. de, Moraes, S. M. de, Sampaio, C. de G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2006). Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método da redução de ferro (FRAP). *Comunicado Técnico Embrapa*, 125, 3–6. <https://doi.org/ISSN 1679 6535>
- Rufino, M. S. M., Fernandes, F. A. N., Alves, R. E., & de Brito, E. S. (2009). Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH{radical dot} system. *Food Chemistry*, 114(2), 693–695. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>
- Salomão, L. C. C., de Siqueira, D. L., Aquino, C. F., & de Lins, L. C. R. (2018). Jabuticaba—Myrciaria spp. *Exotic Fruits*, 237–244. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00030-7>
- Seo, S. H., Kim, E. J., Park, S. E., Park, D. H., Park, K. M., Na, C. S., & Son, H. S. (2020). GC/MS-based metabolomics study to investigate differential metabolites between ale and lager beers. *Food Bioscience*, 36, 100671.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100671>

Shopska, V., Denkova, R., Lyubenova, V., & Kostov, G. (2019). Kinetic characteristics of alcohol fermentation in brewing: State of art and control of the fermentation process. In *Fermented Beverages: Volume 5. The Science of Beverages*.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00013-0>

Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1).

Tyrell, T., & Fischer, F. (2014). Influencing the organic acid profile of beer by application of adsorbent materials. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 459–466. <https://doi.org/10.1002/jib.151>

Wu, S. B., Dastmalchi, K., Long, C., & Kennelly, E. J. (2012). Metabolite profiling of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and other dark-colored fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7513–7525.

<https://doi.org/10.1021/jf301888y>

Yumol, J. L., & Ward, W. E. (2018). The polyphenolic compound hesperidin and bone protection. In *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease* (2nd ed.). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813006-3.00032-5>

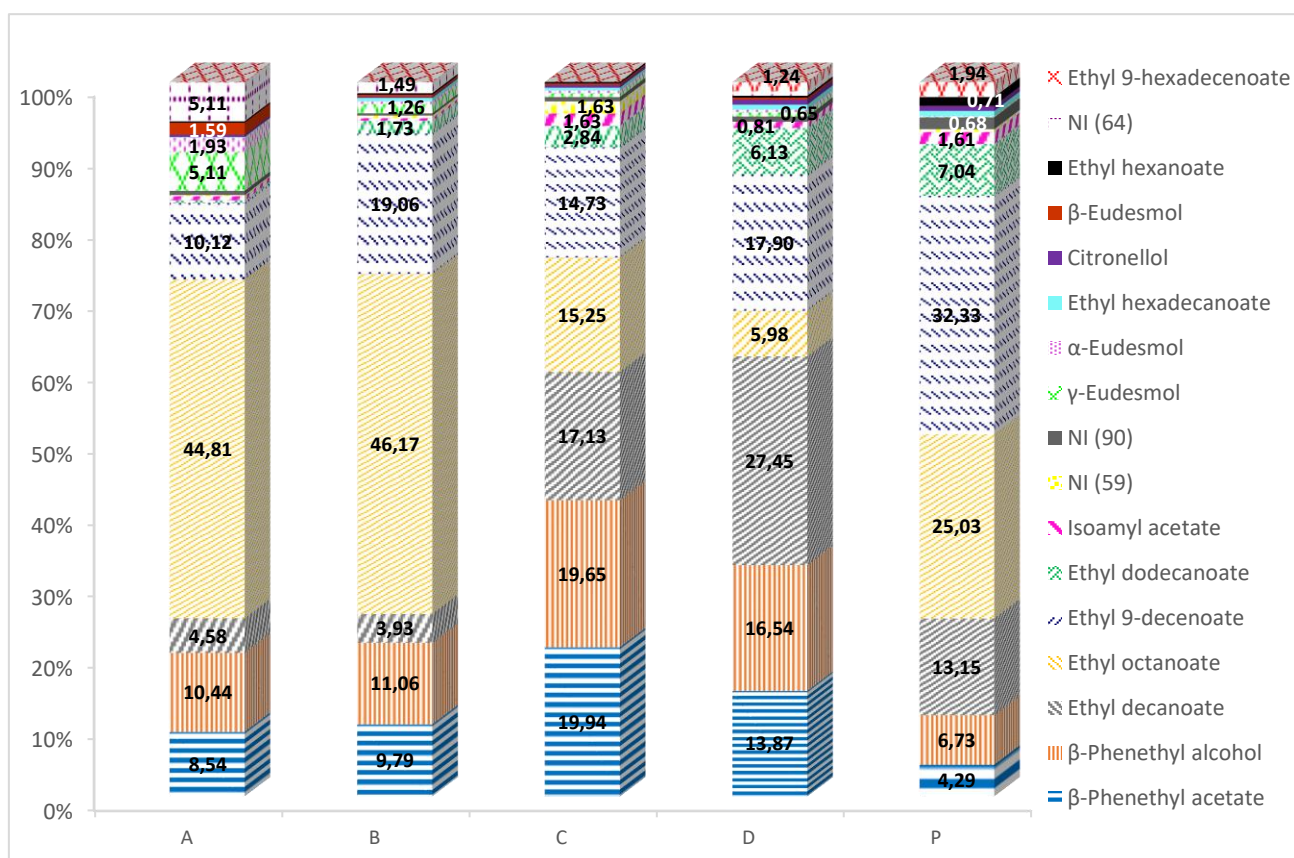
Zapata, P. J., Martínez-Esplá, A., Gironés-Vilaplana, A., Santos-Lax, D., Noguera-Artiaga, L., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2019). Phenolic, volatile, and sensory profiles of beer enriched by macerating quince fruits. *LWT*, 103, 139–146.

<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.01.002>

Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison

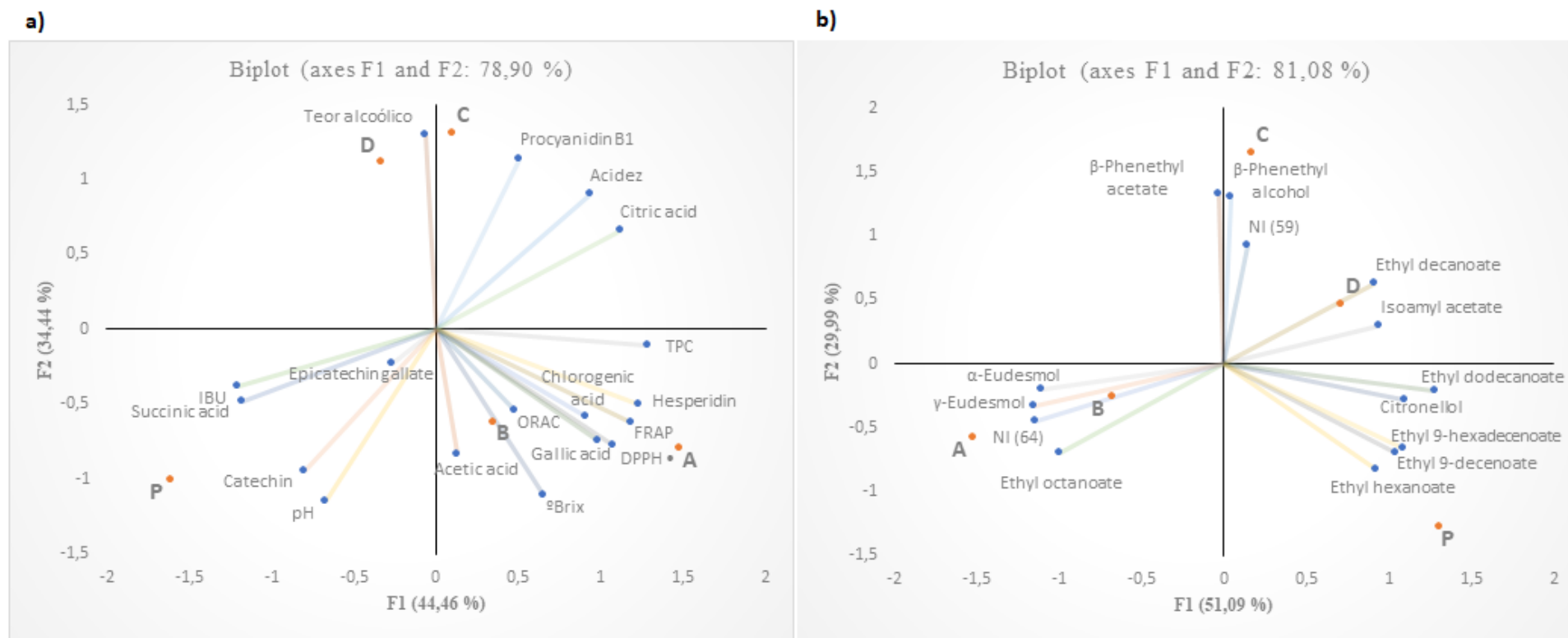
to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114(1), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>

Fig. 1 Ten most present volatiles compounds in jabuticaba beers.



Beers A, B are 30 and 15% jabuticaba added during boiling step respectively, C and D 30 and 15% jabuticaba added during fermentation respectively, and P without fruit.

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) showing a) physicochemical parameters and b) volatiles compounds. X-axes represent the principal component one (PC1), while y-axes represent the principal component (PC2).



6. CONCLUSÕES GERAIS

Ao fim deste estudo uma cerveja estilo Saison com adição de jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora Berg*) foi desenvolvida, caracterizada e pode-se afirmar que:

- A etapa da produção a qual a jabuticaba é adicionada a cerveja teve grande impacto nas suas características físico-química e com auxílio da técnica estatística de componentes principais (PCA) foi possível separá-las em três grupos; cervejas com adição de jabuticaba durante a etapa de fervura (A e B) que são marcadas pela sua alta composição de compostos fenólicos e atividade antioxidante, os aromas γ e α -eudesmol e octanoato de etila; as cervejas adicionadas de jabuticaba durante a fermentação (C e D), que se distinguem pelo seu maior teor alcoólico, concentração de procianidina B1 e os aromas álcool fenético, acetato de fenético e decanoato; e a cerveja padrão (P) que se caracteriza pela presença de catequina, ácido succínico, amargor (IBU) e os compostos voláteis 9-hexadecanoato, 9-decanoato, hexanoato de etila.
- As características sensoriais as cervejas com adição de jabuticaba foram descritas com aroma de folhas e cascas verdes, o sabor ácido, adstringente e herbal frutado. Sendo as cervejas C e D as que apresentaram esses atributos mais intensamente, enquanto que as amostras A e B exibiram características visuais mais atraentes (menor turbidez, melhor espuma e carbonatação).
- A formulação C foi a preferida pelos julgadores devido ao seu equilíbrio acidez/dulçor e maior semelhança com a jabuticaba.
- O próximo passo para o estudo seria a adequação da cor, turbidez e carbonatação da cerveja C, análise sensorial quantitativa e investigar a adição de fruta nas etapas de fervura e fermentação simultaneamente, a fim de obter uma cerveja com alta capacidade antioxidante e melhor preferência sensorial

APÊNDICE

Apêndice 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre o desenvolvimento de **cerveja saison com adição de jabuticaba**, que está sendo desenvolvido por Matheus Pereira de Carvalho, aluno de pós-graduação em ciências e tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação do Professor Dr. Marcelo Barbosa Muniz Moreira e está norteado pela Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

O objetivo do estudo é a elaboração de uma cerveja estilo saison com adição do fruto inteiro da jabuticaba caracterizando seus principais atributos sensoriais por meio de grupo focal online, avaliando assim a opinião dos consumidores para o produto desenvolvido.

Em decorrência da pandemia todas as etapas desse estudo serão realizadas de maneira remota. As sessões serão gravadas (áudio e vídeos), para serem analisadas posteriormente.

Solicitamos a sua colaboração para participar da análise sensorial **de cerveja com jabuticaba**, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome e sua imagem serão mantidos em sigilo. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos, previsíveis, para a sua saúde. Contudo por ser um produto alcoólico é destinado para maiores de 18 anos e é contra a lei dirigir sob a influência de álcool, sendo passível de multa e suspensão do direito de dirigir. Durante o decorrer da análise o participante pode se sentir compelido a realizar o teste sendo possível não fazê-lo ou deixar o local sem qualquer prejuízo.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição. Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura da Testemunha

Contato com o Pesquisador (a) Responsável

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, fazer contato com a pesquisadora:

Matheus Pereira de Carvalho. Endereço: Rua Renato Rubens de Moraes, 144. Funcionários IV. João Pessoa -PB. Telefone: (83) 99921-4731.

Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB – Cidade Universitária / Campus I. Bloco Arnaldo Tavares, sala 812 – Fone: (83) 3216-7791

Matheus Pereira de Carvalho
Assinatura do Pesquisador Responsável

Dr. Marcelo Barbosa Muniz
Assinatura do Pesquisador Orientado

Apêndice 2

Recrutamento para análise sensorial online de Cerveja com Jabuticaba

Prezado participante,

O formulário a seguir visa obter informação básicas sobre os interessados em participar da análise sensorial de Cerveja com adição de Jabuticaba, projeto de pesquisa realizado por Matheus Carvalho sob orientação do prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz da Universidade Federal da Paraíba (PPGCTA).

Os resultados deste questionário serão utilizados para determinar se você se encaixa no perfil procurado. Caso se encaixe entraremos em contato para futuras informações. Sua participação é voluntária.

Toda a pesquisa será realizada online assim seguindo as recomendações da OMS em relação a pandemia do Covid-19.

Agradecemos desde já pela sua participação.
Obrigado!

Qualquer dúvida entrar em contato: mpcarvalho@hotmail.com
wapp: (83) 99921-4731

Concorda em participar da pesquisa?

☐ Sim ☐ Não

Consome cerveja Artesanal?

☐ Sim ☐ Não

Nome: _____

Telefone (cel, Whatapp): _____

Email: _____

Gênero

☐ Feminino ☐ Masculino

Outra: _____

Idade

☐ 20-29 ☐ 30-39 ☐ 40-49 ☐ 50-59 ☐ 60-69

Grau de instrução

☐ 1º grau ☐ 2º grau ☐ superior incompleto ☐ superior completo ☐
pós-graduação ☐ Outra: _____

A quanto tempo consome cerveja artesanal?

☐ 6 - 12 meses ☐ 1 - 2 anos ☐ 2 - 3 anos ☐ a mais de 4 anos

Com que frequência consome cerveja artesanal?

- ☐ 1 - 2 vezes por mês ☐ 3 - 4 vezes por mês
☐ 2- 3 vezes por semana ☐ mais de 3 vezes por semana

Quais estilos de cerveja a baixo você conhece? (experimentou)

- ☐ American ☐ Lager Pilsen ☐ IPA ☐ Cream Ale ☐ Munich Helles ☐ Helles
 Bock
☐ Vienna ☐ Altbier ☐ Weissbier ☐ Golden Ale ☐ Brown Ale ☐ Porter
☐ Stout ☐ Red Ale ☐ Blonde Ale ☐ APA - American Pale Ale ☐ Berliner Weisse
☐ Lambic ☐ Gueuze ☐ Fruit Lambic ☐ Witbier ☐ Bière de Garde ☐ Saison
☐ Golden Strong Ale ☐ Trapistas

Quais seus estilos preferidos?

- ☐ American ☐ Lager Pilsen ☐ IPA ☐ Cream Ale ☐ Munich Helles ☐ Helles
 Bock
☐ Vienna ☐ Altbier ☐ Weissbier ☐ Golden Ale ☐ Brown Ale ☐ Porter
☐ Stout ☐ Red Ale ☐ Blonde Ale ☐ APA - American Pale Ale ☐ Berliner Weisse
☐ Lambic ☐ Gueuze ☐ Fruit Lambic ☐ Witbier ☐ Bière de Garde ☐ Saison
☐ Golden Strong Ale ☐ Trapistas Outras: _____

Quais horários disponíveis você teria para participar de uma reunião sobre a cerveja estudada? (leve em consideração que a reunião pode dura entre 1 e 2 horas)

	Segunda- feira	Segunda- feira	Segunda- feira	Segunda- feira	Segunda- feira
8 - 10 h					
10 - 12 h					
12-14 h					
14 - 16h					
16- 18h					
18 - 20h					

Apêndice 3

Cinética da fermentação das cervejas de jabuticaba

Na Tabela 3 e Figura 6 estão expostos o pH das cervejas durante a fermentação. O pH das cervejas variaram entre $3,57 \pm 0,03$ a $5,33 \pm 0,02$ onde a maior leitura foi observada no início da fermentação (P, C e D) e a menor na amostra C no tempo 6, após a adição das jabuticabas na fermentação.

Tabela 3 - pH durante a fermentação das cervejas de jabuticaba.

Tempo (dias)	pH				
	A	B	C	D	P
0	$3,78 \pm 0,13b$	$4,22 \pm 0,01c$	$5,33 \pm 0,01a$	$5,32 \pm 0,02a$	$5,33 \pm 0,02a$
1	$3,94 \pm 0,10c$	$4,22 \pm 0,03a$	$4,57 \pm 0,03b$	$4,63 \pm 0,02b$	$4,29 \pm 0,04a$
2	$3,82 \pm 0,01c$	$4,10 \pm 0,06d$	$4,34 \pm 0,03a$	$4,51 \pm 0,01b$	$4,43 \pm 0,06ab$
3	$3,69 \pm 0,03b$	$3,99 \pm 0,01c$	$4,28 \pm 0,17a$	$4,37 \pm 0,04a$	$4,37 \pm 0,03a$
4	$3,69 \pm 0,01b$	$4,12 \pm 0,02c$	$4,21 \pm 0,01a$	$4,59 \pm 0,01d$	$4,24 \pm 0,03a$
5	$4,08 \pm 0,10b$	$4,12 \pm 0,02b$	$4,04 \pm 0,01b$	$4,07 \pm 0,01b$	$4,31 \pm 0,02a$
6	$3,64 \pm 0,01c$	$4,03 \pm 0,01d$	$3,57 \pm 0,03b$	$4,03 \pm 0,01e$	$4,59 \pm 0,01a$
7	$3,69 \pm 0,01c$	$4,09 \pm 0,03d$	$3,62 \pm 0,02b$	$4,06 \pm 0,02e$	$4,28 \pm 0,02a$
8	$3,68 \pm 0,01c$	$4,15 \pm 0,01d$	$3,62 \pm 0,01b$	$4,06 \pm 0,03e$	$4,29 \pm 0,02a$
9	$3,73 \pm 0,01c$	$4,09 \pm 0,01d$	$3,68 \pm 0,02b$	$4,07 \pm 0,02e$	$4,33 \pm 0,02a$
10	$3,74 \pm 0,01c$	$4,07 \pm 0,01e$	$3,68 \pm 0,02b$	$4,06 \pm 0,01e$	$4,35 \pm 0,01a$

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Amostras P A B C e D são Padrão, 30% fervura, 15% fervura, 30% fermentação e 15% fermentação respectivamente.

Fonte: Próprio autor (2021).

No início da fermentação (Tempo 0) pode-se observar que as amostras P, C e D são iguais, este resultado era esperado já que até então não havia sido adicionado as jabuticabas.

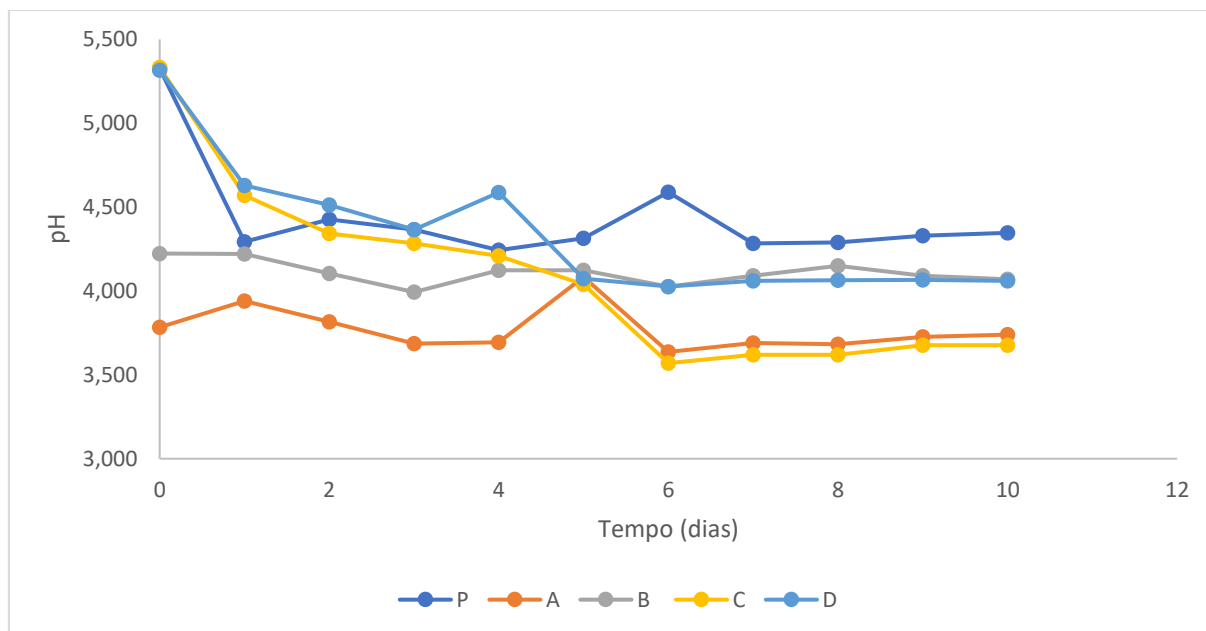
Pode-se notar também que a medida que a fermentação avança o pH tende a cair, devido a produção de ácidos orgânicos pelas levedura como ácido acético e cetoácidos (LIVENS, 2016; SHOPSKA *et al.*, 2019).

As amostras com adição das jabuticabas apresentaram os menores pH, resultado esperado, devido ao atribuído as ácido da fruta (pH em torno de 3,5) (LIMA, A. *et al.*, 2008). A partir do Tempo 5 notou-se uma maior queda no pH das amostras C e D, já que nesse ponto houve a adição das jabuticabas durante a fermentação. Massami Imaizumi (2018) adicionou jabuticaba desidratada durante a fermentação e observou um pH de 3,8.

O declínio do pH é mais relevante nas amostras onde se adicionou a fruta durante a fermentação, pode-se atribuir esse resultado ao maior tempo de contato entre a cerveja e a fruta assim como a maior extração de ácidos fenólicos devido a fermentação (MINNAAR *et al.*, 2017).

As amostras se dividiram em 3 grupos, como pode ser observado na Figura 6, sendo as com maior percentagem de fruta (A e C) as mais ácidas (Tabela 3) seguidas das amostras B e D e por último padrão com o maior pH e menor acidez.

Figura 6- pH das cervejas durante a fermentação



Fonte: Próprio autor (2021) .

Na Tabela 4 estão expostos os resultados da acidez total durante a fermentação. Os valores variaram de $0,469 \pm 0,017b$ (A) a $0,229 \pm 0,017b$ (P). Os maiores valores de acidez foram encontrados nas amostras com adição da fruta, aumentando diretamente com a quantidade de fruta, onde as amostras com 30% (A e C) apresentaram os maiores valores.

Tabela 4- Acidez total durante a fermentação

Tempo (dias)	Acidez total (%) ácido acético (m/V)				
	A	B	C	D	P
0	$0,469 \pm 0,017b$	$0,349 \pm 0,017c$	$0,190 \pm 0,017a$	$0,200 \pm 0,017a$	$0,170 \pm 0,017a$
1	$0,409 \pm 0,046b$	$0,269 \pm 0,030c$	$0,170 \pm 0,017a$	$0,170 \pm 0,017a$	$0,170 \pm 0,017a$
2	$0,409 \pm 0,017b$	$0,269 \pm 0,030c$	$0,190 \pm 0,017a$	$0,170 \pm 0,017a$	$0,170 \pm 0,017a$
3	$0,429 \pm 0,017b$	$0,289 \pm 0,017c$	$0,210 \pm 0,030a$	$0,190 \pm 0,017a$	$0,160 \pm 0,017a$
4	$0,439 \pm 0,017c$	$0,339 \pm 0,035b$	$0,279 \pm 0,035b$	$0,190 \pm 0,017a$	$0,190 \pm 0,017a$
5	$0,349 \pm 0,017b$	$0,379 \pm 0,017bc$	$0,279 \pm 0,017a$	$0,409 \pm 0,017c$	$0,259 \pm 0,035a$
6	$0,489 \pm 0,017b$	$0,339 \pm 0,017c$	$0,479 \pm 0,030b$	$0,369 \pm 0,017c$	$0,170 \pm 0,017a$
7	$0,429 \pm 0,017bc$	$0,349 \pm 0,017bd$	$0,389 \pm 0,030b$	$0,339 \pm 0,017bd$	$0,249 \pm 0,017a$
8	$0,429 \pm 0,017b$	$0,229 \pm 0,017a$	$0,449 \pm 0,030b$	$0,339 \pm 0,017c$	$0,249 \pm 0,017a$
9	$0,469 \pm 0,046b$	$0,289 \pm 0,017ac$	$0,449 \pm 0,030b$	$0,339 \pm 0,017c$	$0,210 \pm 0,030a$
10	$0,459 \pm 0,017b$	$0,289 \pm 0,017c$	$0,469 \pm 0,017b$	$0,309 \pm 0,017c$	$0,229 \pm 0,017a$

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Amostras P A B C e D são Padrão, 30% fervura, 15% fervura, 30% fermentação e 15% fermentação respectivamente.

Fonte: Próprio autor (2021).

Os valores de acidez encontrados foram mais altas que as observadas por Sung and Lee, (2017) para cervejas de alta fermentação comerciais que variaram de 0,11% a 0,17%, mais baixas que as encontradas nesse trabalho. Deve-se levar em consideração que os resultados durante a cinética são da cerveja “verde” e que a maturação é a etapa de estabilização química garantindo as características esperadas da cerveja (HARRISON; ALBANESE, 2017; SHOPSKA *et al.*, 2019).

Como discutido anteriormente, as cervejas com a adição de frutas possuem as características da fruta adicionada, assim, a jabuticaba, por ser uma fruta ácida é esperada uma maior acidez total. Nardini e Garaguso (2020) observaram a maior quantidade de ácidos fenólicos em cervejas produzidas com frutas.

Na Tabela 5 e Figura 7 estão expostos teores alcoólicos ao decorrer da fermentação, onde o resultado final variou de 5,6 a 6,2 %. As amostras P, B e A, registraram menor teor alcoólico. O que era esperado já que as mesmas iniciaram a fermentação com o SST próximos entre si. Enquanto as amostras que foram adicionadas de jabuticaba durante a fermentação (C e D) foram as com maior teor alcoólico, devido ao aumento dos açúcares no mosto, resultando em maior produção de álcool.

A adição de frutas em cerveja está diretamente relacionada com o aumento do teor alcoólico Zapata *et al.* (2019) observaram esse efeito ao adicionar marmelo em cerveja âmbar. O mesmo foi observado em diversos estudos com adição de frutas a formulações de cervejas, consequência dos açúcares fermentescíveis presentes na fruta aumentando assim a produção de metabólicos como o etanol (CHO *et al.*, 2018; GASÍŃSKI; KAWA-RYGIELSKA; SZUMNY; CZUBASZEK; *et al.*, 2020; GASÍŃSKI; KAWA-RYGIELSKA; SZUMNY; GAŚIOR; *et al.*, 2020; KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019; MARTÍNEZ *et al.*, 2017; MASSAMI IMAIZUMI *et al.*, 2018).

Tabela 5-Teor alcoólico ao decorrer da fermentação

Tempo	Teor alcoólico (%)				
	A	B	C	D	P
0	0	0	0	0	0
1	1,55	1	2,1	1,8	2,1
2	3,25	3,25	3,5	3,25	3,85
3	4,5	5,2	4,5	5,2	4
4	5,2	5,2	4,5	4,5	4,5
5	4,8	5,4	4,55	5,1	5,2
6	5,2	5,5	5,5	5,2	5,3

7	5,9	5,5	5,6	5,3	5,4
8	5,9	5,6	5,9	5,5	5,6
9	5,9	5,6	5,9	5,5	5,6
10	5,7	5,6	6,2	5,9	5,6

Amostras P A B C e D são Padrão, 30% fervura, 15% fervura, 30% fermentação e 15% fermentação respectivamente.

Fonte: Próprio autor (2021).

O conteúdo de sólidos solúveis totais (SST) e açúcares redutores (AR) estão expostos na Tabela 6 e 7 respectivamente. Ao final da fermentação o AR das amostras variou de 4,160 a 6,285 g/L, B e A respectivamente, enquanto o SST foi de 2,00 a 3,42 g/L B e P respectivamente.

No Tempo 5 é possível notar um aumento na concentração de açúcares nas amostras C e D já que houve a adição da fruta.

Na Figura 7 pode-se observar o consumo dos açúcares ao decorrer da fermentação, à medida que o AR diminui o teor alcoólico aumenta. Comportamento esperado já que o principal nutriente consumido pelas leveduras são açúcares redutores (SHOPSKA *et al.*, 2019).

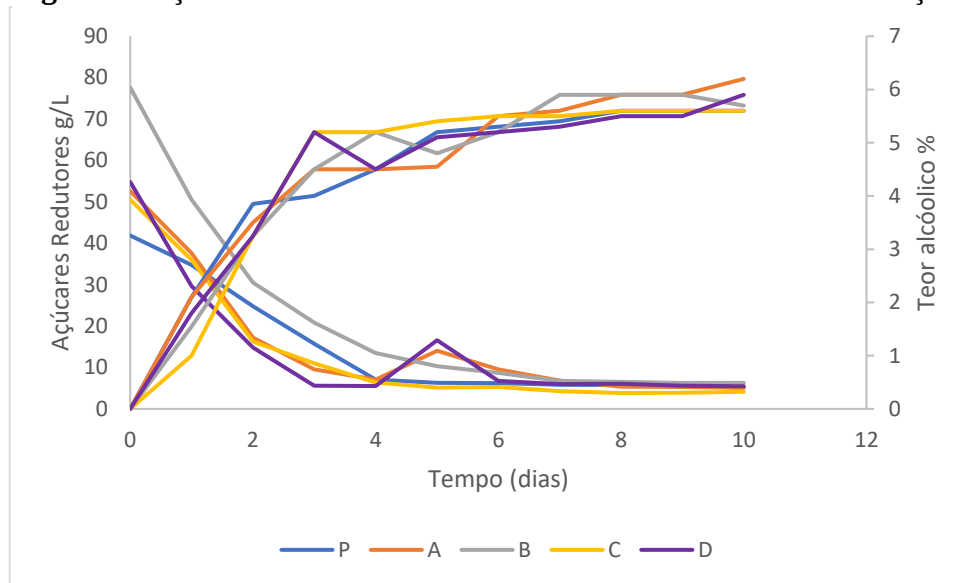
Tabela 6 - Açúcares redutores durante a fermentação

Tempo (dias)	Açúcares redutores (g de glicose/L)				
	A	B	C	D	P
0	77,623 ± 0,509c	50,532 ± 0,564d	52,601 ± 0,216b	54,812 ± 0,960e	41,878 ± 0,777a
1	50,485 ± 0,534c	35,989 ± 0,423d	37,598 ± 0,216b	29,616 ± 0,318e	34,776 ± 0,326a
2	30,510 ± 0,108c	16,235 ± 0,393d	17,200 ± 0,041b	14,824 ± 0,494e	24,748 ± 0,178a
3	20,852 ± 0,176c	11,038 ± 0,441d	9,517 ± 0,113b	5,572 ± 0,285e	15,737 ± 0,176a
4	13,493 ± 0,198a	6,372 ± 0,450c	7,049 ± 0,181b	5,544 ± 0,059d	7,047 ± 0,050a
5	10,342 ± 0,071c	5,111 ± 0,141d	14,001 ± 0,141b	16,612 ± 0,958e	6,271 ± 0,070a
6	8,714 ± 0,155c	5,279 ± 0,135d	9,503 ± 0,036b	6,779 ± 0,078e	6,238 ± 0,093a
7	6,770 ± 0,086c	4,301 ± 0,067d	6,855 ± 0,041b	6,003 ± 0,155a	5,862 ± 0,071a
8	6,492 ± 0,062c	3,826 ± 0,141d	5,349 ± 0,098b	6,046 ± 0,022e	5,735 ± 0,059a
9	6,276 ± 0,045c	3,910 ± 0,037d	5,265 ± 0,014b	5,594 ± 0,029e	5,448 ± 0,071a
10	6,285 ± 0,057c	4,160 ± 0,106d	5,067 ± 0,056b	5,458 ± 0,071a	5,340 ± 0,123a

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Amostras P A B C e D são Padrão, 30% fervura, 15% fervura, 30% fermentação e 15% fermentação respectivamente.

Fonte: Próprio autor (2021).

Figura 7 - Açúcares redutores e teor alcoólico ao decorrer da fermentação

Fonte: Próprio autor (2021).

Apesar dos valores de SST iniciais serem iguais entre as amostras P, A e C, os valores de AR variaram bastante. Para a amostra A, a adição das jabuticabas na etapa de fervura aumentou a quantidade de AR, já que os açúcares presentes na fruta são frutose, glicose e sacarose (NERI-NUMA *et al.*, 2018). Do mesmo modo, a amostra B, que mesmo com SST mais baixo que a P, possui uma maior concentração de AR.

Sung (2017) faz a comparação da concentração de AR de cervejas de alta fermentação comerciais, encontrando uma variação de 8,15 a 17,5 g/L. Esta discordância pode estar relacionada à capacidade fermentativa da levedura (atenuação), das cervejas estudadas.

A atenuação aparente da levedura está atrelada ao resíduo de açúcares fermentescíveis ao fim da fermentação, levando em consideração o °Brix inicial e final (WHITE; ZAINASHEFF, 2010). Nas amostras, a atenuação aparente variou de 68% a 79% para P e B, respectivamente.

Notou-se que tanto a etapa do processamento, onde foi adicionada a fruta, quanto a quantidade de fruta influenciaram a atenuação da levedura, porém a adição de fruta mostrou um efeito positivo na utilização dos açúcares, concordando com o observado por Massami Imaizumi *et al.*, (2018) e Jahn *et al.* (2020) para cervejas adicionadas de frutas.

No tempo 5 é possível notar um pico tanto no AR quanto no SST para as cervejas C e D devido à adição das jabuticabas durante a fase de fermentação, assim sendo uma reação já esperada.

Quando adicionadas durante a fervura (A e B) a atenuação foi maior em relação as adicionadas durante a fermentação (C e D) com mesma quantidade de fruta. Resultado semelhante foi encontrado por Massami Imaizumi *et al.* (2018) para cerveja produzida com jabuticaba desidratada.

Enquanto que para a quantidade de fruta as formulações com 15% de fruta (B e D) tiveram as maiores atenuações quando comparadas as com 30% de fruta (A e C). Isso ocorre devido a menor quantidade de substrato presentes nas cervejas B e D aumentando a velocidade do consumo consequentemente maior atenuação.

Tabela 7 - Sólidos solúveis totais durante a fermentação

Tempo (dias)	Sólidos solúveis totais (°Brix)				
	A	B	C	D	P
0	10,63 ± 0,06a	9,58 ± 0,29b	10,77 ± 0,06 ^a	10,08 ± 0,14c	10,73 ± 0,12a
1	8,42 ± 0,14a	7,58 ± 0,38b	7,83 ± 0,14b	7,83 ± 0,14b	8,5 ± 0,10a
2	6,58 ± 0,14c	4,8 ± 0,14a	5,67 ± 0,14b	4,33 ± 0,29a	4,75 ± 0,25a
3	6,07 ± 0,12c	4,92 ± 0,14ab	5,13 ± 0,12b	3,5 ± 0,25d	4,67 ± 0,14a
4	4,33 ± 0,14b	3,92 ± 0,14a	3,92 ± 0,14 ^a	3,58 ± 0,14a	3,93 ± 0,12a
5	4,3 ± 0,14a	4,83 ± 0,14b	4,92 ± 0,14b	5,92 ± 0,14c	4,02 ± 0,23a
6	4,08 ± 0,14bc	3,58 ± 0,14a	4,25 ± 0,25bc	4,33 ± 0,14c	3,83 ± 0,14ab
7	3,83 ± 0,14ab	4,17 ± 0,14b	3,98 ± 0,23ab	4,17 ± 0,14b	3,67 ± 0,14a
8	3,75 ± 0,25a	2,83 ± 0,14b	3,67 ± 0,14 ^a	3,42 ± 0,14a	3,58 ± 0,14a
9	3,17 ± 0,14a	3,00 ± 0,87a	3,33 ± 0,38 ^a	3,33 ± 0,14a	3,75 ± 0,25a
10	2,92 ± 0,14ab	2,00 ± 0,25c	3,25 ± 0,25 ^a	2,58 ± 0,14b	3,42 ± 0,14a
Atenuação aparente (%)	72,57	79,13	69,81	74,38	68,17

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Amostras P A B C e D são Padrão, 30% fervura, 15% fervura, 30% fermentação e 15% fermentação respectivamente.

Fonte: Próprio autor (2021).

Os açúcares identificados no mosto estão expostos na Tabela 8 e Figura 8. O principal açúcar identificado foi a maltose. Resultado esperado já que é o principal dissacarídeo proveniente do malte após a mosturação (STEWART, 2016). As cervejas adicionadas de jabuticaba na fervura (A e B) apresentaram uma maior quantidade de glucose e frutose, esses são os principais açúcares presentes na jabuticaba (SALOMÃO *et al.*, 2018).

Tabela 8 - Açúcares presentes no mosto das cervejas estudadas.

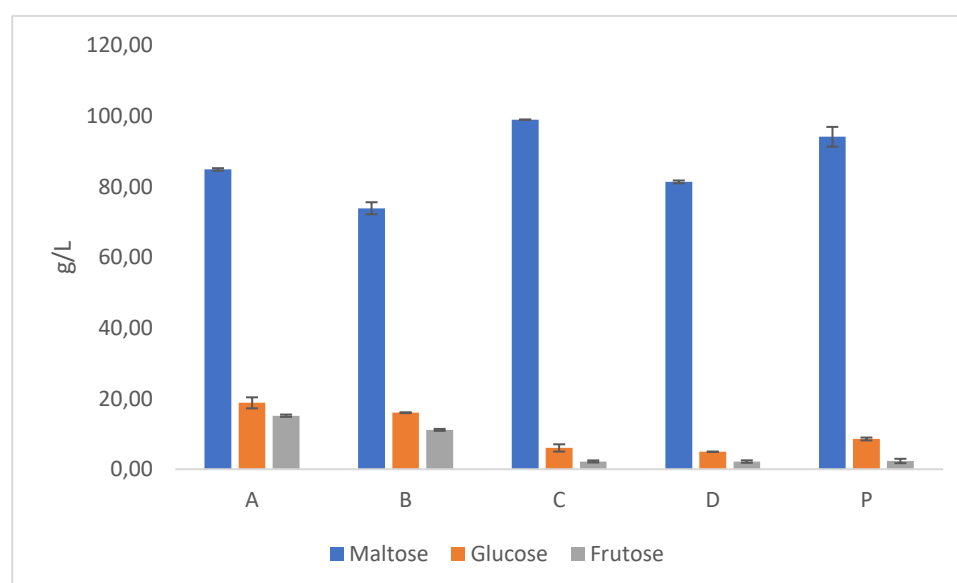
Mostos					
	A	B	C	D	P
Maltose (g/L)	84,86±0,35b	73,87±1,7c	98,93±0,03d	81,34±0,39b	94,1±2,8a
Glucose (g/L)	18,79±1,56d	16±0,12c	6,03±1,02b	4,95±0,06b	8,56±0,41a
Frutose (g/L)	15,15±0,33c	11,14±0,28b	2,2±0,3a	2,17±0,35a	2,33±0,62a
Total (g/L)	118,79	101,01	107,17	88,46	104,99

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Tukey.

Amostras P A B C e D são Padrão, 30% fervura, 15% fervura, 30% fermentação e 15% fermentação respectivamente.

Fonte: Próprio autor (2021).

O aumento nas concentrações de ~75% na concentração de glucose foi observado por Kawa-Rygielska *et al.* (2019) em mosto adicionados de suco de cereja Cornelia. Do mesmo modo Martínez *et al.* (2017) relatou um aumento de mais de 100% nas concentrações de glucose e frutose ao adicionar suco de caqui em cervejas pilsen.

Figura 8- Açúcares identificados das cervejas com jabuticaba.

Fonte: Próprio autor (2021).