



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

JOSÉ RENATO DA SILVA

CERVEJA ARTESANAL DE TRIGO COM ADIÇÃO DO FRUTO DO MANDACARU
(*Cereus jamacaru* DC.): BIOATIVIDADE E PERFIL AROMÁTICO

JOÃO PESSOA - PB

2022

JOSÉ RENATO DA SILVA

**CERVEJA ARTESANAL DE TRIGO COM ADIÇÃO DO FRUTO DO MANDACARU
(*Cereus jamacaru* DC.): BIOATIVIDADE E PERFIL AROMÁTICO**

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

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCELO BARBOSA MUNIZ

JOÃO PESSOA - PB

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586c Silva, José Renato da.

Cerveja artesanal de trigo com adição do fruto do
mandacaru (Cereus jamacaru DC.) : bioatividade e perfil
aromático / José Renato da Silva. - João Pessoa, 2022.
95 f. : il.

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

1. Cerveja artesanal - Atividade antioxidante. 2.
Fruto do mandacaru - Compostos voláteis. 3. Cervejas -
Fruto do mandacaru. I. Muniz, Marcelo Barbosa. II.
Título.

UFPB/BC

CDU 663.4(043)

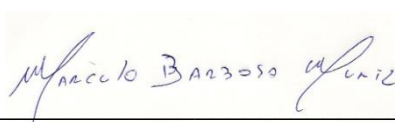
JOSÉ RENATO DA SILVA

**CERVEJA ARTESANAL DE TRIGO COM ADIÇÃO DO FRUTO DO MANDACARU
(*Cereus jamacaru* DC.): BIOATIVIDADE E PERFIL AROMÁTICO**

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

DATA: 09/09/2022

BANCA EXAMINADORA



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



Prof^a Dr^a. Taliana Kênia Alves Bezerra – PPGCTA/CT/ UFPB/ João Pessoa – PB
Examinador interno



Prof^a. Dr^a. Ana Flávia Santos Coelho – DEQ/CT/ UFPB/ João Pessoa – PB
Examinador externo

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e por ter me guiado e me capacitado nesta trajetória, por todo amor e proteção diária. Agradeço por ter me dado forças em momentos difíceis e iluminado todos os meus passos.

Agradeço de forma incondicional à minha mãe, Quitéria, que sempre me apoiou, por todo carinho, amor e cuidado e que nunca mediu esforços para realização de todos os meus sonhos. Também agradeço, ao meu pai, José João (*In memoriam*), sei que sempre estará cuidando de mim e guiando meus passos. Amo vocês!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro para execução desta pesquisa.

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA/UFPB), por todo suporte para execução da pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz, pelo apoio, orientação, ensinamentos, confiança e compreensão durante a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram, Anderson, Cinara, Erlane, Evellin, Thayná e Suellen, obrigado por todo companheirismo, força, amizade e apoio emocional durante todo este percurso.

Agradeço também aos colegas que auxiliaram e foram fundamentais no desenvolvimento deste trabalho, Lys, Givanildo, Rayane, Raquel, Ayrton, Izabel, Hagaíldes e Matheus, obrigado por toda ajuda e apoio.

Agradeço imensamente a banca examinadora composta pela Prof^a Dr^a Taliana Kênia Alves Bezerra e a Prof^a Dr^a Ana Flávia Santos Coelho, pela disponibilidade e considerações para enriquecimento do trabalho.

Aos técnicos e coordenadores do Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA), do Laboratório de Flavor e ao laboratório parceiro do IFPE – Campus Petrolina, por todo suporte e apoio que foram fundamentais para execução das análises.

Aos professores por toda contribuição, especialmente ao Prof. Dr. Normando Ribeiro Filho pela disponibilidade e auxílio nesta fase final.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram de forma positiva para realização deste trabalho e por toda torcida até chegar a este momento.

OBRIGADO!

***“Dando sempre graças por tudo a nosso Deus e Pai,
Em nome de nosso Senhor Jesus Cristo”***

(EFÉSIOS 5:20)

RESUMO

Com o mercado de cervejas artesanais crescendo em ritmo exponencial, impulsionado pela diversidade de ingredientes incorporados ao processo de fabricação, a exigência por um produto diversificado e com propriedades benéficas a saúde, vem se tornando um desafio para as microcervejarias e pesquisadores. Diante da infinidade de ingredientes não-convencionais, as frutas adicionadas as cervejas conferem novas características a bebida, além de garantir maior estabilidade oxidativa, atuando na vida útil do produto, em função do potencial bioativo característico desta matéria-prima. Neste sentido, o fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), típico da Caatinga do Nordeste do Brasil, rico em açúcares fermentescíveis, minerais e substâncias antioxidantes, surge como uma alternativa promissora para aplicação em cervejas artesanais, visando conferir complexidade aromática e potencializar o carácter bioativo da bebida. O objetivo deste trabalho foi elaborar e verificar a influência da adição do fruto do mandacaru na formação de compostos voláteis, na atividade antioxidante e composição fenólica de uma cerveja artesanal de trigo. Foram elaboradas três formulações de cervejas utilizando diferentes concentrações do adjunto, calculadas em relação ao volume do mosto: 100 g/L (Cerveja A), 200 g/L (Cerveja B) e 300 g/L (Cerveja C), além de uma cerveja controle. Os resultados demonstraram que a adição do fruto do mandacaru proporcionou o aumento da concentração de etanol, glicerol e ácidos orgânicos, obtidos por HPLC. As cervejas A, B e C apresentaram concentrações semelhantes de etanol (29,5 g/L). A cerveja C, destacou-se na produção de glicerol (5,4 g/L) e a cerveja B na concentração de ácidos orgânicos (7 g/L). Foram identificados sessenta e um compostos voláteis por GC-MS, mais abundantes nas cervejas adicionadas de fruto do mandacaru, incluindo alguns ésteres importantes para caracterização aromática de cervejas, como o acetato de etila, acetato de fenetila e hexanoato de etila. O álcool fenetílico e o 2-metil-1-butanol foram mais abundantes na cerveja controle. Outros grupos de compostos voláteis como terpenos, hidrocarbonetos, fenóis e compostos sulfurados foram mais abundantes em cervejas adicionadas do fruto. Verificou-se o impacto positivo do enriquecimento das cervejas com fruto do mandacaru, na atividade antioxidante avaliada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP e no teor de compostos fenólicos, sendo este último maior para a cerveja C (25,35 g/L). Foram identificados 16 compostos fenólicos, pertencente a classe dos flavonoides, ácidos fenólicos e taninos, sendo a cerveja C, destaque na concentração de flavonoides, como epicatequina (3,86 g/L) e miricetina (1,78 g/L) e nos ácidos fenólicos, como ácido gálico (6,22 g/L) e ácido cafeico (0,13 g/L). A procianidina B2, pertencente a classe dos taninos, foi o composto fenólico mais abundante nas amostras avaliadas, exceto para a cerveja B. Os resultados deste estudo sugerem que a adição do fruto do mandacaru resultou no aumento da concentração de etanol, glicerol e ácidos orgânicos das cervejas, bem como no teor de compostos fenólicos e consequentemente na atividade antioxidante, aprimorando as características bioativas da bebida. A composição volátil das cervejas também foi afetada com a adição do fruto do mandacaru, resultando em maior abundância de ésteres, que atua de forma majoritária pelo perfil aromático, terpenos, hidrocarbonetos e dentre outros grupos de compostos voláteis. Desse modo, o fruto do mandacaru demonstrou seu potencial para enriquecimento da composição volátil e fenólica das cervejas, servindo como alternativa promissora para aplicação como adjunto em cervejas artesanais.

Palavras-chave: Cerveja Artesanal, atividade antioxidante, compostos voláteis, fruto do mandacaru

ABSTRACT

With the craft beer market growing exponentially, driven by the diversity of ingredients incorporated into the manufacturing process, the demand for a diversified product with beneficial health properties has become a challenge for microbreweries and researchers. Faced with the infinity of non-conventional ingredients, the fruits added to the beers give new characteristics to the drink, in addition to guaranteeing greater oxidative stability, acting in the shelf life of the product, due to the bioactive potential characteristic of this raw material. In this sense, the fruit of the mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), typical of the Caatinga of Northeast Brazil, rich in fermentable sugars, minerals and antioxidant substances, appears as a promising alternative for application in artisanal beers, aiming to impart aromatic complexity and enhance the bioactive character of the drink. The objective of this work was to elaborate and verify the influence of the addition of the mandacaru fruit in the formation of volatile compounds, in the antioxidant activity and phenolic composition of an artisanal wheat beer. Three beer formulations were prepared using different concentrations of the adjunct, calculated in relation to the volume of the wort: 100 g/L (Beer A), 200 g/L (Beer B) and 300 g/L (Beer C), in addition to a control beer. The results showed that the addition of the mandacaru fruit increased the concentration of ethanol, glycerol and organic acids, obtained by HPLC. Beers A, B and C had similar concentrations of ethanol (29.5 g/L). Beer C stood out in the production of glycerol (5.4 g/L) and beer B in the concentration of organic acids (7 g/L). Sixty-one volatile compounds were identified by GC-MS, more abundant in beers added with mandacaru fruit, including some important esters for the aromatic characterization of beers, such as ethyl acetate, phenethyl acetate and ethyl hexanoate. Phenethyl alcohol and 2-methyl-1-butanol were more abundant in the control beer. Other groups of volatile compounds such as terpenes, hydrocarbons, phenols and sulfur compounds were more abundant in beers added to the fruit. The positive impact of enrichment of beers with mandacaru fruit was verified on the antioxidant activity evaluated by the DPPH, ABTS and FRAP methods and on the content of phenolic compounds, the latter being higher for C beer (25.35 g/L). Sixteen phenolic compounds were identified, belonging to the class of flavonoids, phenolic acids and tannins, with beer C being highlighted in the concentration of flavonoids, such as epicatechin (3.86 g/L) and myricetin (1.78 g/L) and in phenolic acids, such as gallic acid (6.22 g/L) and caffeic acid (0.13 g/L). Procyanidin B2, belonging to the tannin class, was the most abundant phenolic compound in the evaluated samples, except for beer B. The results of this study suggest that the addition of mandacaru fruit resulted in an increase in the concentration of ethanol, glycerol and organic acids. of beers, as well as in the content of phenolic compounds and consequently in the antioxidant activity, improving the bioactive characteristics of the drink. The volatile composition of the beers was also affected with the addition of the mandacaru fruit, resulting in a greater abundance of esters, which act mainly through the aromatic profile, terpenes, hydrocarbons and among other groups of volatile compounds. Thus, the mandacaru fruit demonstrated its potential to enrich the volatile and phenolic composition of beers, serving as a promising alternative for application as an adjunct in craft beers.

Keywords: Craft beer, antioxidant activity, volatile compounds, mandacaru fruit

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da flor do lúpulo	22
Figura 2 - Plantas do mandacaru (<i>Cereus jamacaru</i> DC.)	28
Figura 3 - Fruto do mandacaru (<i>Cereus jamacaru</i> DC.)	29
Figura 4 - Fluxograma genérico da produção de cerveja	32
Figura 5 - Variação de temperatura em função do tempo na mosturação	34
Figura 6 - Matérias-primas (malte Pilsen, malte de trigo e levedura) e fruto do mandacaru utilizadas para produção das cervejas.....	38
Figura 7 . Delineamento experimental da pesquisa.....	40
Figura 8 - Fruto do mandacaru sendo higienizado (A) e armazenado em sacos plásticos (B)	41
Figura 9 - Fluxograma de elaboração da cerveja com fruto do mandacaru	43
Figura 10 - Maltes moídos utilizados na fabricação da cerveja com adição do fruto do mandacaru.....	44
Figura 11 - Variação de temperatura em função do tempo na mosturação empregada na cerveja com adição do fruto do mandacaru	45
Figura 12 - Filtração do mosto das cervejas estudadas	46
Figura 13 - Resfriamento do mosto (A) e mostos transferidos para os fermentadores (B).....	46
Figura 14 . Cerveja padrão e cervejas com adição do fruto do mandacaru (<i>Cereus jamacaru</i> DC.)	47

ARTIGO

Fig. 1. Final yeast viability (%) of control beer (■), Beer A (□), Beer B (▨) and Beer C (■). Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3). Different lowercase letters indicate significant differences ($p < 0.05$) for viability according to Tuckey's test..... 71

Fig. 2. Relative difference (to control beer) for Beer A (□), Beer B (▨) and Beer C (■), in the production of: ethanol and glycerol (A); acetic acid and other acids (B). Data is presented as standardised difference to Beer P (control), Tukey's post hoc test was used to identified significant differences and is presented as lower-case letters. Different letters indicate significant differences in viability within a species ($p < 0.05$)...... 72

Fig. 3. The heat map of volatile compound contents (including fatty acids, higher alcohols, esters, phenols, hydrocarbons, lactones, sulphurous, and terpenes) measured from Beer P (control), Beer A, Beer B, and Beer C..... 73

Fig. 4. A) Relative difference (to control beer) for Beer A (□), Beer B (▨) and Beer C (■) for the antioxidant activity evaluated by the DPPH, ABTS, FRAP methods, and the sum of phenolic compounds; **B)** A heat graph for explaining phenolic compounds contents including flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and tannins from its relative abundance (%). Data is presented as standardised difference to Beer P (control), Tukey's post hoc test was used to identified significant differences and is presented as lower-case letters. Different letters indicate significant differences in viability within a species ($p < 0.05$)..... 75

Fig. 5. Principal component analysis (Bi-Plot) of ethanol, glycerol, and acetic acid as fermentation markers; and its correlation with phenolic compounds (A), and aroma compounds (B). In total there are 4 fermentations across 4 treatments and triplicate replication. Treatments are: Beer P (control, 0 g of mandacaru fruit pulp/L), (100 g of mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g of mandacaru fruit pulp/L) e Beer C (300 g of mandacaru fruit pulp/L)..... 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição físico-química do fruto do mandacaru (<i>Cereus jamacaru</i> DC.).....	30
Tabela 2 - Matérias-primas utilizadas na fabricação de cerveja com adição do fruto do mandacaru.....	42
Tabela 3 - Formulações das cervejas com adição do fruto do mandacaru	42

ARTIGO

Table 1. Beer wort carbohydrates (including Maltotetraose + Maltotriose+Sucrose, Maltose, Glucose and Fructose) concentration (g/L), each value is the mean of three replicates and errors shown by standard deviation	66
Table S1: Ethanol, glycerol and organic acids quantified in the control beer and in the beers produced with 100 g/L (Beer A), 200 g/L, (Beer B) and 300 g/L (Beer C) of mandacaru fruit.....	87
Table S2: Abundance relative (% of total area) of volatile compounds identified by HS-SPME-GC-MS method. Treatments evaluated are Beer P (control), Beer A (100 g mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g mandacaru fruit pulp/L), and Beer C (300 g mandacaru fruit pulp/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.....	88
Table S3: Antioxidant activity of control beer and in the beers produced with 100 g/L (Beer A), 200 g/L (Beer B) and 300 g/L (Beer C) of mandacaru fruit.....	91
Table S4: Phenolic profile obtained from treatments evaluated including Beer P (control), Beer A (100 g mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g mandacaru fruit pulp/L), and Beer C (300 g mandacaru fruit pulp/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.....	92
Table S5: Correlation matrix (Pearson (n)) among phenolic compounds	93
Table S6: Correlation matrix (Pearson (n)) among volatile compounds	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
ACDH	Acetaldehyde Dehydrogenase
ANOVA	Análise de Variância
ATT	Acidez Total Titulável
A _w	Atividade de água
BJCP	Beer Judge Certification Program
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
GEA	Equivalente de Ácido Gálico
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
MFP	Mandacaru fruit pulp
NIST	National Institute of Standards & Technology
PCA	Principal Component Analysis
PIB	Produto Interno Bruto
SPME	Solid Phase Micro-Extraction
STT	Sólidos Solúveis Totais
SV	Standardization Value
TCA	Tricarboxylic Acid
TEAC	Trolox Equivalente Antioxidant Capacity
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	17
2.1 DEFINIÇÃO E ORIGEM DA CERVEJA	17
2.2 MERCADO CERVEJEIRO	18
2.3 MATÉRIAS-PRIMAS	19
2.3.1 Água.....	19
2.3.2 Malte.....	20
2.3.3 Lúpulo	21
2.3.4 Leveduras.....	23
2.3.5 Adjuntos	24
2.3.6 Cervejas com adição de frutas	25
2.3.6.1 Fruto do mandacaru	27
2.3.6.2 Composição volátil, atividade antioxidante e compostos fenólicos em cervejas	31
2.4 PROCESSAMENTO DA CERVEJA	32
2.4.1 Malteação	33
2.4.2 Moagem.....	33
2.4.3 Mosturação	34
2.4.4 Filtração	35
2.4.5 Fervura.....	35
2.4.6 Resfriamento do mosto	36
2.4.7 Fermentação	36
2.4.8 Maturação.....	36
2.4.9 Filtração	37
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 MATERIAIS	38
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	39

3.3 MÉTODOS.....	41
3.3.1 Processamento do fruto do mandacaru	41
3.3.2 Formulações da cerveja com adição do fruto do mandacaru	41
3.3.3 Preparação das cervejas com adição do fruto do mandacaru	43
3.3.3.1 Moagem	43
3.3.3.2 Mosturação	44
3.3.3.3 Filtração	45
3.3.3.4 Fervura, resfriamento e clarificação	46
3.3.3.5 Fermentação e maturação	47
3.3.3.6 Envase e armazenamento.....	47
3.3.4 Determinação da viabilidade celular	48
3.3.5 Determinação da capacidade antioxidante das cervejas	48
3.3.5.1 Método de sequestro de radicais livres ABTS ⁺ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)	48
3.3.5.2 Método de sequestro de radicais livres DPPH [*] (2,2-difenil-1-picril-hidrazila).....	48
3.3.5.3 Atividade antioxidante pela Redução do complexo férrico (FRAP)	49
3.3.6 Perfil de etanol, glicerol, ácidos orgânicos e compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE.....	49
3.3.6.1 Preparo da amostra	49
3.3.6.2 Separação e identificação do etanol e glicerol.....	49
3.3.6.3 Separação e identificação dos ácidos orgânicos e açúcares.....	50
3.3.6.4 Separação e identificação dos compostos fenólicos	50
3.2.8 Perfil aromático das cervejas por cromatografia gasosa.....	51
3.2.9 Análise estatística	51
REFERÊNCIAS	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	62
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	96

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a legislação brasileira, a cerveja é uma bebida alcoólica obtida mediante a fermentação do mosto de cevada ou extrato de malte, que pode ser substituído por adjuntos, permitindo a diversificação da bebida, sendo os principais ingredientes o malte, lúpulo, água e as leveduras fermentativas (DENBY *et al.*, 2018; BRASIL, 2019). A cerveja é uma das bebidas alcoólicas fermentadas mais antigas e consumidas do mundo, onde o Brasil ocupa a terceira posição da lista de maiores produtores mundiais, com estimativa média de 14 bilhões de litros produzidos por ano (SINDICERV, 2019).

O segmento de cervejas artesanais vem crescendo em ritmo acelerado, resultado da diversificação de ingredientes utilizados, garantindo sua inovação. O segmento de cerveja artesanal distingue-se do mercado tradicional em virtude da escala de produção, isto é, são produzidas em pequenas cervejarias e em pequenos volumes, permitindo a incorporação de ingredientes não convencionais (HUGHES, 2014). Segundo a Associação Brasileira de Cerveja Artesanal (ABRACERVA), em média, são produzidos cerca de 380 milhões de litros de cerveja artesanal por ano, representando cerca de 2,5 % do total de cerveja fabricado no país, refletindo o crescimento desta categoria no mercado cervejeiro.

A composição aromática das cervejas é diretamente influenciada pelos ingredientes utilizados no processo de fabricação, interferindo no metabolismo das leveduras, para formação de álcoois (etanol, álcoois superiores), ésteres, ácidos orgânicos, aldeídos, compostos sulfurados e dentre outros, que impactam o aroma e sabor final da bebida (OLANIRAN *et al.*, 2017). Por sua vez, a presença dos compostos fenólicos, além de contribuir com o sabor e aroma, atuam na capacidade antioxidante das cervejas, auxiliando na estabilidade oxidativa, prolongando a vida útil das cervejas e são provenientes, em sua maioria, do malte e lúpulo, além de outros ingredientes utilizados (SILVA, DIAZ, KOBLITZ, 2021). O enriquecimento das cervejas com adjuntos cervejeiros pode agregar novos sabores e aromas à bebida, e complementar o potencial bioativo da bebida, promovendo benefícios à saúde (HUMIA *et al.*, 2020).

As cervejas artesanais destacam-se na utilização de matérias-primas não-convencionais e inovadoras, e com um mercado em crescimento exponencial, a exigência por um produto diversificado e com características peculiares, vem se tornando um desafio para as microcervejarias e pesquisadores (BREDA, BARROS, GOUVINHAS, 2022; VILLACRECES, BLANCO, CABALLERO, 2021). Neste sentido, a incorporação de novos ingredientes as cervejas artesanais proporcionam sua inovação, em termos de compostos

aromáticos e potencial bioativo. Além de servir como fonte de açúcares fermentescíveis, os adjuntos, podem aperfeiçoar o sabor e aroma das cervejas, que podem ser dos mais diversos ingredientes, como trigo, milho, frutas, ervas, mel e etc. (D'AVILA *et al.*, 2012). Por sua vez, as frutas, além de auxiliar como fonte de carboidratos, atuam na complexidade de aroma e sabor da bebida, conferindo novos sabores e aromas e auxilia na qualidade nutricional, em virtude da complexidade de açúcares, conferindo a bebida sabor frutado e refrescante, além de propriedades bioativas benéficas a saúde (DUCRUET *et al.*, 2017; KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019; NARDINI; GARAGUSO, 2020).

Neste contexto, o fruto do mandacaru, nativo da Caatinga do Nordeste do Brasil, incluindo a Paraíba, apresenta concentrações consideráveis de sólidos solúveis totais e açúcares redutores, componentes importantes para sua aplicação em fermentação alcoólica, como a produção cervejas. É o fruto de um cacto colunar, característico da região semiárida do Brasil, popularmente conhecido como mandacaru, pertencente à família da *Cactaceae*, encontrado em solos pedregosos, sendo resistente a seca (SANTOS *et al.*, 2020). O fruto do mandacaru, além da rica composição em açúcares, apresenta alguns minerais (cálcio e potássio) e substâncias de caráter antioxidante, como os compostos fenólicos e alguns carotenoides. Suas sementes, apesar de pequenas, apresentam alto teor de fibras e óleos comestíveis, e sua polpa branca e mucilagínosa, possui aroma leve, sendo comestível e adocicada, em função seu alto teor de açúcares, com textura similar ao kiwi (MATOS *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2019). Além disso, o caráter antioxidante do fruto pode ser útil na prevenção de doenças degenerativas e cardiovasculares (PEREIRA *et al.*, 2013).

No entanto, apesar destas características, existe uma escassez de estudos científicos com informações sobre as características do fruto do mandacaru e principalmente sobre sua utilização em processos biotecnológicos. Embora seja um fruto com potencial para utilização na indústria de alimentos, o fruto não é explorado comercialmente, devido à alta perecibilidade em função do elevado conteúdo de água, dificultando sua comercialização e consumo *in natura*, não existindo relatos estatísticos de produção anual, em função da agricultura extensiva (NETO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2019).

Nesta perspectiva, diante da vulnerabilidade da comercialização e consumo do fruto do mandacaru, e seu potencial para aplicação na indústria de alimentos, atrelado a inovação no processamento de cervejas artesanais, seu emprego na produção desta bebida, configura uma forma de reconhecimento regional de um fruto pouco explorado nativo da Caatinga, visando a valorização uma matéria-prima regional, estimulando seu cultivo e exploração,

incorporando valor à bebida em relação as propriedades aromáticas e potencial bioativo, em benefício de sua composição.

Diante dos fatos mencionados, esta pesquisa teve por objetivo desenvolver e verificar a influência do fruto do mandacaru na formação dos compostos voláteis, nas concentrações de compostos fenólicos e nas propriedades antioxidantes das cervejas, utilizado diferentes concentrações deste adjunto.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 DEFINIÇÃO E ORIGEM DA CERVEJA

Segundo a Legislação Brasileira, cerveja é a bebida obtida por fermentação alcoólica do mosto de cevada malteada ou do extrato de malte e água potável, por ação de leveduras cervejeiras e com adição de lúpulo (BRASIL, 2019). A legislação ainda permite a substituição do malte de cevada por adjuntos cervejeiros, sendo estes, matéria-prima que fornece extrato ao mosto, além do malte.

Existem diversas evidências sobre a origem da cerveja, contudo, o local exato ainda é indefinido. No entanto, a evidência mais relevante, é que sua origem se deu na Mesopotâmia, onde a cevada era colocada de molho para germinação de forma rudimentar e empregada na produção de pães, que eram imersos em jarras de águas e deixados para fermentar espontaneamente, com ação de leveduras selvagens. Como resultado, os egípcios desfrutavam da formação do pão e de uma bebida alcoólica semelhante à cerveja, levando a presumir que sua descoberta se deu por acaso, a partir da fabricação do pão por padeiros da época. Essa bebida era distribuída para todo o povo e atingindo lugares privilegiados em rituais religiosos (BAMFORTH; RUSSEL; STEWART 2009).

Diante da descoberta, os egípcios fizeram com que a bebida se tornasse conhecida mundialmente e a difundiram para o resto da Mesopotâmia e posteriormente a Europa. Mas tarde, as técnicas e receitas foram aprimoradas, empregando diversas ervas como o louro, sálvia, gengibre e lúpulo. O lúpulo é utilizado até hoje na fabricação da cerveja e acredita-se que sua introdução no processamento se deu a partir da necessidade da produção da cerveja em maior escala, por aumentar a vida útil da bebida (FERREIRA *et al.*, 2011; SILVA; LEITE; PAULA, 2016; VENTURINI FILHO, 2016).

Em 1516, o Duque Guilherme IV da Bavária, na Alemanha, declarou uma lei que regulamentava que a cerveja deveria ser apenas produzida com água, cevada e lúpulo, introduzindo então o lúpulo como matéria-prima no processamento da bebida, para dar o sabor marcante, bem como auxiliar na conservação da cerveja. Atualmente, sabe-se que a variação nos ingredientes principais como água, malte, lúpulo e as leveduras é o ponto de partida para a fabricação de diferentes tipos de cerveja. Diante disso, a cerveja tornou-se a bebida mais conhecida mundialmente, sendo uma das bebidas alcoólicas fermentadas mais antigas a ser produzida, sofrendo diversas transformações e aprimoramento ao longo do

tempo, para enfim alcançar a tecnologia de processamento atual (ROSA; AFONSO, 2015; VENTURINI FILHO, 2016).

2.2 MERCADO CERVEJEIRO

Segundo a Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (CERVBRASIL) em parceria com o Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2020 foram registradas 174 novas cervejarias no Brasil, um aumento de 14,4% em relação ao ano anterior. Todos estados brasileiros possuem ao menos uma cervejaria registrada, sendo o Acre contemplado com a primeira indústria de cerveja. A atividade cervejeira no país vem crescendo nos últimos anos, retratando um crescimento exponencial deste ramo. A região Sul e Sudeste concentra a maior parte das fábricas cervejeiras (CERVBRASIL, 2020).

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de cerveja, perdendo apenas para Estados Unidos e a China, com uma estimativa de produção de 14 bilhões de litros/ano, sendo responsável por 1,6 % do PIB (Produto Interno Bruto) do país, gerando cerca de 2 milhões de empregos e faturamento anual de R\$ 77 bilhões, refletindo no crescimento expressivo deste setor. A região Nordeste destaca-se com uma das principais regiões de maior crescimento em termos de produção da bebida e estabelecimentos registrados (CERVBRASIL, 2020).

O mercado brasileiro da cerveja se divide em dois grandes segmentos, as grandes e as pequenas empresas. As grandes empresas, de modo geral abrangem todo território nacional, em virtude de seu imenso volume de produção. Por outro lado, as pequenas empresas atendem um nicho de mercado específico, atuando como microcervejarias ou cervejarias artesanais. Por sua vez, a cerveja artesanal é fabricada em microcervejarias utilizando ingredientes de qualidade, produzindo cervejas de qualidade superior, em termos de sabor, aroma, cor e uma variedade de estilos. (CARVALHO, 2005; VIANA *et al.*, 2021).

De modo geral, as cervejas artesanais diferenciam-se das cervejas industriais em termos de escala, sendo a cerveja artesanal caracterizada por ser fabricada em pequena escala e um processo fermentativo mais lento, frente ao método tradicional. Podem-se adicionar ingredientes não convencionais com o intuito aprimorar sua qualidade em termos de cor, sabor e aroma, visando à diferenciação e inovação, como por exemplo, seu potencial funcional, em função da produção de substâncias específicas, como compostos bioativos com atividade antioxidante (CASTRO *et al.*, 2021; HUGHES, 2014; VIANA *et al.*, 2021).

O mercado de cerveja artesanal vem aumentando consideravelmente nos últimos anos, graças à variedade de estilos e pela curiosidade de produção, onde muitos empreendedores acreditam no potencial desta bebida com padrão de qualidade único e de valor agregado (RAMOS; PANDOLFI, 2019).

2.3 MATÉRIAS-PRIMAS

Os ingredientes obrigatórios para a produção de cerveja são: água, malte ou seu extrato, lúpulo e leveduras (BRASIL, 2019). As concentrações utilizadas de cada ingrediente, bem como a incorporação de alguns ingredientes não obrigatórios, como adjuntos, ingredientes de origem animal ou vegetal e outras espécies de leveduras, são responsáveis pelos diferentes estilos de cervejas.

2.3.1 Água

A água compreende de 92 a 95% do peso da cerveja, portanto, é considerado o ingrediente de maior proporção e exerce forte influência da qualidade do produto final, devido a sua composição química e biológica e seus constituintes. Contudo, deve ser limpa, incolor e sem cheiro, além de não possuir micro-organismos patogênicos, sendo o meio indispensável para as reações químicas e bioquímicas que ocorrem na cerveja. Estrategicamente, as indústrias cervejeiras situam-se em regiões abundantes em água de boa qualidade (BARROS; BARROS, 2010).

Alguns compostos que causam a turbidez na água, como terra, argila, minerais e outros componentes, podem servir como substrato para micro-organismos para seu crescimento e possível contaminação. O pH é outro parâmetro importante de influência da qualidade da cerveja garantindo a mistura uniforme do mosto e adjunto adicionado, solubilização dos componentes aromáticos, amargos e adstringentes, além de proporcionar uma fermentação sem contaminação e facilitar a atividade enzimática. Este parâmetro deve ser controlado entre 5 a 9,5. (ROSA; AFONSO, 2015).

Os padrões microbiológicos da água são outro fator importante, com isso se faz necessário o controle do processo a fim de evitar sua contaminação. De acordo com a Legislação Brasileira, a *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa de origem exclusivamente gastrointestinal e potencial causador de doenças e indicadora de contaminação fecal, indicando más condições higiênico-sanitárias da água (BRASIL, 2019).

Deve-se realizar o controle rigoroso da qualidade da água, que por sua vez, deve ser livre do micro-organismo.

2.3.2 Malte

Malte ou cevada malteada é o grão de cevada, submetido a processo de malteação, que se refere à germinação parcial e posterior desidratação (BRASIL, 2019). A cevada pode ser de várias espécies, geralmente utiliza-se a cevada *Hordeum vulgare* L., que quando colhida é colocada sob condições favoráveis para germinação, com o objetivo de facilitar a etapa de fermentação, deixando menores as cadeias de amido, devido à ação de enzimas, nesta fase ocorre à conversão da cevada em malte (CARVALHO; GONÇALVES; GUIDO, 2016; JUNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009).

O malte tem a função básica de fornecer os açúcares fermentescíveis para as leveduras, além de proteínas e algumas enzimas que facilitam a fermentação, auxiliando assim no teor alcoólico da cerveja, porém este componente detém outras funções, como conferir cor, aroma e sabor, além da formação de uma boa espuma. As dextrinas fornecem corpo à cerveja e as enzimas proteolíticas realizam a clivagem das proteínas presentes no mosto cervejeiro, fornecendo nutrientes para a leveduras e consistência a espuma (BETTENHAUSEN *et al.*, 2018; NACHEL; ETTLINGER, 2013; NETO *et al.*, 2020).

O processo de obtenção do malte é denominado maltagem, que consiste em elevar a umidade do grão para estimular a germinação. Nesta etapa, enzimas hidrolíticas importantes serão ativadas, transformando os açúcares insolúveis em açúcares solúveis e fermentescíveis, uma vez que a parede celular do grão se torna quebradiça e auxilia na extração do amido. Geralmente esta fase ocorre por 3 a 4 dias a 16 °C, onde o grão fica em contato com a água e finaliza quando sua umidade está em torno de 42 %. Posteriormente, o aquecimento e a torra do malte são executados com o intuito de promover a remoção da umidade do grão. A torra do grão influencia no sabor, cor e perfil volátil das cervejas, devido às reações que ocorrem em temperaturas elevadas, como a reação de Maillard, degradação de Strecker e caramelização, que por sua vez, produzem melonoidinas, pirois e dentre outros compostos. Desta forma, a temperatura deve ser controlada a fim de evitar a produção de um malte com menor rendimento, em virtude da utilização dos carboidratos nas reações de escurecimento, reduzindo sua disponibilidade na fermentação (BETTENHAUSEN *et al.*, 2018; MALLET, 2014; NETO *et al.*, 2020; REICHEL *et al.*, 2021).

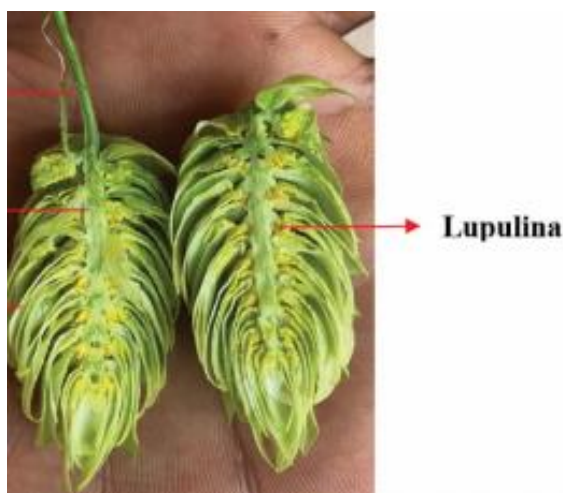
Em geral, torras realizadas em temperaturas inferiores a 100 °C, promovem melhor desempenho da obtenção de açúcares fermentescíveis, em virtude da manutenção da integridade das enzimas, por isso, maltes submetidos a este tipo de torra, são denominados maltes bases, devido a maior atividade enzimática (NETO *et al.*, 2020; STEWART *et al.*, 2017).

Outros cereais também podem ser fontes do malte da cerveja, como trigo, arroz, milho e aveia, onde geralmente parte do malte oriundo da cevada é substituída por estes tipos de cereais, a citar o trigo. Ao empregar o malte de outros cereais, a nomenclatura deve apresentar a designação acrescida da matéria-prima. Neste sentido, a substituição ocorre para servir de fonte alternativa de carbono e redução custos, uma vez que, os outros cereais apresentam custos inferiores a cevada (CARVALHO; BENTO; SILVA, 2006; VENTURINI FILHO, 2016).

2.3.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é responsável pelo sabor amargor e aroma característico da cerveja devido a resinas amargas e seus óleos essenciais. Mesmo que utilizado em pequenas quantidades, ainda é responsável pela estabilidade coloidal da espuma e atua como conservante do produto, pois alguns ácidos de sua estrutura apresentam efeito bacteriostático e podem exercer função antioxidante e antimicrobiana, evitando processos oxidativos e contaminação microbiológica. A quantidade de lúpulo utilizada é um fator importante que deve ser levado em consideração na produção de cervejas, uma vez que variando este parâmetro é possível obter cervejas distintas em termos de aroma e sabor. Na produção de cerveja torna-se interessante utilizar apenas as flores não fertilizadas das plantas fêmeas, devido a sua composição rica em lupulina. A flor do lúpulo apresenta glândulas responsáveis pela produção de um pó amarelo, denominado lupulina, que contém as resinas, óleos essenciais e polifenóis de interesse para fabricação da bebida (DURELLO; SILVA; BOGUSZ, 2019; JUNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009). A Figura 1 revela a estrutura da flor do lúpulo.

Figura 1 - Estrutura da flor do lúpulo



Fonte: DURELLO; SILVA; BOGUSZ (2019).

As resinas do lúpulo podem ser subdivididas em α -ácidos (humulonas) e β -ácidos (lupulonas) e caracterizam o amargor do lúpulo e os óleos essenciais são responsáveis pelo aroma. Já os compostos fenólicos contribuem com a capacidade de estabilização da espuma da cerveja, e na conservação e estabilização das características sensoriais, em virtude da capacidade antioxidante e antimicrobiana (CASTRO *et al.*, 2021). Vale destacar que outros compostos presentes no lúpulo contribuem para as propriedades sensoriais da cerveja, como monoterpenos (aroma cítrico), compostos oxigenados (notas florais) e compostos de enxofre (notas frutadas) (YAN *et al.*, 2019).

Comumente, o lúpulo é adicionado na etapa de fervura, já que esta fase facilita a liberação dos óleos essenciais e resinas responsáveis pelo aroma e sabor amargo da cerveja, devido ao rompimento das glândulas que sintetizam a lupulina. Esta etapa, favorece a isomerização dos α -ácidos a iso- α -ácidos que, por sua vez, contribuem de forma significativa para o amargor e estabilidade da espuma (BLAND *et al.*, 2015).

Em relação aos óleos essenciais, estes são constituídos majoritariamente por terpenoides, dentre eles pode-se citar: mirceno, que fornece o aroma floral; β -cariofileno e α -humuleno, que contribuem para o aroma de pimenta e amadeirado, respectivamente e linalol, que apesar da pequena quantidade, confere o aroma cítrico (BOCQUET *et al.*, 2018).

A comercialização do lúpulo pode ser realizada em forma de flores secas, *pellets* e extratos. Os *pellets* são pequenas pelotas resultantes da prensagem das flores e forma reduzir o volume e facilitar o transporte, além de concentrar os componentes do lúpulo que são importantes na cerveja (NACHEL; ETTLINGER, 2013).

2.3.4 Leveduras

Leveduras são fungos eucarióticos unicelulares, em sua maioria, reproduzem-se por brotamento, não realizam fotossíntese e apresenta uma parede celular rígida, formada majoritariamente por manana e glucana (sacarídeos) e proteínas, e entre outros constituintes. Podem-se apresentar como esféricas, ovóides, cilíndricas ou triangulares e geralmente, temperatura ideal de crescimento entre 25 e 30 °C, com algumas exceções. São responsáveis pela produção de diversos compostos que impactam diretamente o perfil de sabor e aroma das bebidas, que são formados durante a fermentação como resultado do metabolismo das leveduras. Dentre estes compostos, têm-se os álcoois (etanol e álcoois superiores), ésteres de acetato e ésteres etílicos, compostos de carbonila (acetaldeído), ácidos orgânicos (ácido graxos de cadeia média) e compostos de enxofre (sulfeto de hidrogênio e dimetila e dióxido de enxofre) (NEDOVÍČ *et al.*, 2015; VENTURINI FILHO, 2016).

As leveduras são os micro-organismos que desempenham um papel importante na fermentação alcoólica da cerveja, convertendo o açúcar em etanol e gás carbônico. Tradicionalmente, as leveduras atribuídas à fermentação são as espécies do gênero *Saccharomyces*, que produzem etanol e dióxido de carbono, que por sua vez, se subdividem em: *S. cerevisiae* e *S. uvarum*, que são utilizadas a depender do tipo de fermentação realizada. No entanto, outras espécies de leveduras podem ser empregadas na fabricação de cervejas, nomeadas de não-*Saccharomyces*, com intuito de fornecer a bebida diferentes características de aroma e sabor (CAPECE *et al.*, 2018; LARROQUE *et al.*, 2021; TOKPOHOZIN; FISCHER; BECKER, 2019).

Apesar da incorporação de diferentes linhagens de leveduras no processamento da cerveja, ambas detêm a função de conversão do açúcar em álcool, entretanto, em virtude dos diferentes metabolismos, é possível obter cervejas com características distintas em relação a sabor e aroma, oriundo da formação de substâncias específicas, como ácidos orgânicos e ésteres (NIKULIN *et al.*, 2020).

Tradicionalmente, as leveduras do gênero *Saccharomyces* são empregadas na produção de cervejas. Para cervejas produzidas por alta fermentação (18 a 22 °C), é utilizada a *S. cerevisiae*, que atua na superfície do mosto e degrada o substrato rapidamente, acarretando em uma cerveja com sabor frutado, doce e complexo, sendo classificadas como *Ale*. As cervejas produzidas por baixa fermentação (7 a 15 °C) são categorizadas como *Lager* e empregam cepas de *S. uvarum*, que metabolizam o substrato de maneira lenta e eficiente, resultando em uma cerveja de sabor seco (BORTOLLI *et al.*, 2013).

Dentre as espécies de leveduras não-*Saccharomyces*, pode-se citar os gêneros: *Kluyveromyces*, *Lachencea*, *Rhodotorula*, *Starmerella*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora* e entre outros. O destaque destas leveduras, frente às espécies de *Saccharomyces*, refere-se à síntese de algumas enzimas extracelulares, que por sua vez, interagem com precursores aromáticos, deixando-os ativos e influenciando na complexidade de aroma e sabor das bebidas, como na produção de ésteres, álcoois superiores, monoterpenos, fenóis e ácidos orgânicos, tornando a utilização desta classe de leveduras um avanço no mercado cervejeiro, em termos de inovação, devido à pluralidade de compostos formados (CAPECE *et al.*, 2018; LARROQUE *et al.*, 2021).

2.3.5 Adjuntos

Consideram-se adjuntos cervejeiros, os cereais maltados ou não, que sejam aptos ao consumo humano, além disso, mel e os ingredientes de origem vegetal também são considerados adjuntos, desde que sejam fontes de amido e de açúcares (BRASIL, 2019).

Os adjuntos utilizados na fabricação de cerveja têm a finalidade de contribuir como fonte externa de substrato, ou seja, fornecem extrato ao mosto, sendo fonte de açúcares fermentescíveis, utilizados com forma complementar ao malte, conferindo a cerveja características aromáticas e maior rentabilidade do processo de fabricação. Comercialmente, os adjuntos apresentam custos inferiores à obtenção do malte de cevada, reduzindo os custos de fabricação (D'AVILA *et al.*, 2012). Os adjuntos amiláceos correspondem aos cereais e matérias-primas ricas em amido, que irão complementar o malte. Para seleção deste tipo de adjunto deve-se dar importância a sua disponibilidade, o conteúdo de amido, bem como, seu valor econômico. Dentre os adjuntos amiláceos mais utilizados na fabricação de cerveja, podem-se citar o trigo, milho, arroz, conferindo a bebida uma cor mais clara (sem turvação), sabor e aromas suaves e corpo leve, além de aumentar o rendimento do extrato.

O trigo apresenta grande destaque na indústria cervejeira e o mais utilizado, sendo um dos grãos mais cultivados no mundo. No processamento da cerveja é amplamente empregado como adjunto amiláceo por proporcionar sabor e aroma característicos a bebida, formação de uma espuma estável, maior viscosidade ao produto, aroma frutado e sabor de cravo e canela, além de possuir baixo custo de obtenção, quando comparado com a cevada. No Brasil a cerveja com adição de trigo, denomina-se *Weissbier* (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017).

O desenvolvimento de novos produtos, atrelado a inovação na indústria de alimentos vem buscando estratégias que visam satisfazer o consumidor, que por sua vez, encontra-se mais exigente, onde se verifica o aumento da demanda por produtos de qualidade. Neste cenário, as frutas podem ser incorporadas ao processamento da cerveja, aprimorando suas características sensoriais e tecnológicas, agregando valor ao produto, sendo considerados adjuntos não convencionais, pois servem como fonte de açúcares para a fermentação, além de contribuir para doçura residual, sabor e aroma cítrico, devido à produção de compostos aromáticos relevantes (D'AVILA *et al.*, 2012; KUNZE, 2006).

Diante disso, a incorporação de frutas na fabricação de cerveja, além de agregar valor ao produto, serve para reaproveitamento de algumas delas, que em virtude de sua composição, como por exemplo, seu elevado conteúdo de água, apresenta alta perecibilidade. Além de servir como fonte complementar de açúcares fermentescíveis no processo fermentativo, servindo para valorização de matéria-prima regional, aumento de economia regional e minimização de perdas.

2.3.6 Cervejas com adição de frutas

As cervejas adicionadas de frutas ou *fruit beers*, vêm ganhando destaque no mercado cervejeiro, por se tratar de um produto com características sensoriais únicas, atribuindo um sabor diferenciado (frutado) e complexidade no perfil de aroma, devido a adição de ingredientes não convencionais, diferenciando-as das cervejas comuns. A adição das frutas irá auxiliar no processo de fermentação, fornecendo açúcares fermentescíveis ao mosto, desta forma, confere a cerveja novos sabores e aromas, e além disso, pode conferir a cerveja caráter bioativo (D'AVILA *et al.*, 2012; DORDEVIC *et al.*, 2016).

A adição de frutas em cervejas é uma técnica tradicionalmente realizada na Bélgica, utilizando cerejas, framboesas ou pêssegos. A inserção de frutas nas cervejas, proporciona o enriquecimento do conteúdo fenólico da bebida, que é extraídos da própria fruta, elevando seu potencial bioativo. Por isso, a adição deste adjunto na etapa de fermentação garante a extração eficiente de compostos fenólicos, bem como dos sabores e aromas característicos da fruta (NARDINI; GARAGUSO, 2020).

Diante disso, as cervejas adicionadas de frutas, podem apresentar elevadores de teores de substâncias oxidantes que são benéficas a saúde, prevenindo o organismo da ação de radicais livres. Além de vitaminas, especialmente a do complexo B (niacina, riboflavina, piridoxina e os folatos) e compostos fenólicos, que podem contribuir com a absorção de

magnésio e ferro e estimulação da atividade cardíaca e, previnem contra processos oxidativos no organismo (SORBO; BORETO, 2019).

Diante desta perspectiva, vêm surgindo vários estudos sobre a produção de cervejas com a utilização de frutas, como Nardini e Garaguso (2020) que produziram cerveja artesanal com adição de cereja, framboesa, pêssego, damasco, uva, ameixa, laranja e maçã, e concluíram que a adição das frutas enriqueceu o conteúdo fenólico das cervejas. Gasinski *et al.* (2020), exploraram a utilização de manga na produção de cervejas, e verificaram que a adição da fruta acarretou no maior conteúdo volátil do produto e impacto na atividade antioxidante. Por sua vez, Kawa-Rygielska *et al.* (2020), incorporaram cereja na cerveja e concluíram que a adição do suco de cereja permitiu a produção de cerveja com potencial antioxidante, evidenciando que o adjunto utilizado no processamento, pode agregar mais valor à bebida.

Martínez *et al.* (2017) estudaram a influência de diferentes concentrações de suco de caqui em cerveja artesanal e a partir dos resultados, verificaram que as cervejas com a presença da fruta foram mais aceitas sensorialmente e apresentaram resultados satisfatórios em relação a capacidade antioxidante. Zapata *et al.* (2019), estudaram o emprego de frutos de marmelo em cerveja e concluíram que o fruto proporcionou a cerveja maior abundância de compostos voláteis e melhores resultados para a atividade antioxidante e compostos fenólicos. De acordo com os resultados, os frutos adicionados na fabricação da cerveja aumentaram o conteúdo de compostos fenólicos, e desse modo promoveu a cerveja características funcionais relevantes. Diante destas evidências, nota-se que a utilização de frutas contribui para o enriquecimento das cervejas, em termos de composição volátil e caráter bioativo.

As cervejas são categorizadas em duas grandes famílias: as *Ale*, que são fermentadas em temperaturas entre 18 e 25 °C e ação das leveduras ocorre no topo do fermentador e normalmente são mais encorpadas; e as *Lager*, que por sua vez, fermentam entre 7 e 15 °C e as leveduras encontram-se no fundo do fermentador. Desta forma, o que se entende por estilos de cervejas referem-se ao padrão de combinação dos ingredientes para obtenção de cervejas com diferentes características de sabor, aroma e aparência. Dentro dos ingredientes, podem-se citar os variados tipos de malte (Pilsen, Pale, Viena e etc.) e lúpulo (aroma ou amargor), as mais diversas leveduras (*Saccharomyces* ou não-*Saccharomyces*) e adjuntos (amiláceos ou frutados).

Diante de diversos estilos, o BJCP (*Beer Judge Certification Program*) é um guia de caráter internacional que agrupa os mais variados estilos de cervejas, evidenciando suas principais descrições, em termos de história, características sensoriais esperadas, ingredientes

característicos. Dentre os estilos que utilizam malte de trigo, além do malte de cevada, tem-se a *Berliner Weisse*, uma cerveja tipo *ale*, com baixo teor alcoólico (entre 2,8 e 3,8%), sendo uma cerveja alemã, que apresenta alta acidez devido ao alto teor de ácido lático predominante, sintetizado durante a fermentação. Além disso, é uma cerveja clara e de alta carbonatação, tornando-a refrescante. Apresenta baixo amargor, com lúpulo quase indetectável (3 a 8 IBU), onde o equilíbrio da cerveja é proporcionado pela acidez e o dulçor, que pode ser combinada com a adição de frutas, conferindo um aspecto mais refrescante. Cerca de 50% do quantitativo total de malte nesse estilo é malte de trigo, o restante geralmente utiliza-se malte pilsen, e devido ao trigo, a cerveja pode apresentar aroma de massa de pão (BJCP, 2015). Com isso, a adição de frutas a este estilo, além de impactar a composição volátil e funcional da cerveja, o aroma e sabor dos frutos podem ser evidenciados, em virtude do lúpulo ser quase imperceptível (baixo amargor), além ser uma cerveja suave e refrescante.

2.3.6.1 Fruto do mandacaru

O mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) é uma planta que pertence ao gênero *Cereus* e a família *Cactacea*, típico da região semiárida do Nordeste, nos estados da Paraíba, Pernambuco, Bahia, Sergipe, Alagoas, Rio Grande do Norte, Ceará e Piauí. É considerado um cacto arbóreo (pode atingir alturas elevadas), com tronco grosso e ramificado cobertos por espinhos, desenvolve-se em solos pedregosos, e pode atingir até 10 metros de altura. Seu tronco pode alcançar 60 cm de diâmetro e junto a outras espécies de cactáceas, formam a paisagem típica do semiárido nordestino (Figura 2). É utilizado para alimentação bovina, caprina e ovina em épocas de seca, graças a sua importante capacidade de armazenar água, resistindo a condições extremas de limitação hídrica. A captação de água do mandacaru ocorre devido à morfologia da planta, que apresenta uma haste fotossintetizante ativa e um sistema radicular, além disso uma raiz que consegue absorver água contida nos lençóis freáticos. É uma planta utilizada na medicina popular para auxílio em algumas doenças respiratórias, cardiovasculares e renais, em função da presença de componentes fotoquímicos importantes, como flavonoides, saponinas, taninos, antraquinonas e etc. (ARAÚJO; SANTANA, 2020; CAMARA; OLIVEIRA, 2021; SANTOS *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2019).

Figura 2 - Plantas do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.)



Fonte: Próprio autor (2021).

O fruto do mandacaru apresenta-se uma coloração externa variando do róseo ao vermelho e formato ovoide, caracteriza-se como uma baga de 10 a 13 centímetros de largura e de 5 a 9 cm de altura. Possui uma polpa branca e mucilaginosa, com aroma e sabor delicados, além disso, apresenta diversas sementes comestíveis uniformemente distribuídas, sua textura é similar ao kiwi e aparência semelhante a pitaya, sendo encontrado em grandes quantidades entre os meses de fevereiro a setembro. A composição físico-química do fruto do mandacaru, confere a esta matéria-prima grande potencial de aproveitamento industrial em processos biotecnológicos, envolvendo a fermentação alcoólica em função do elevado teor de sólidos totais e açúcares redutores. Entretanto, é um fruto bastante perecível em virtude de seu elevado teor de água, limitando muitas vezes sua comercialização *in natura*, ocasionando em seu desperdício, e quando são utilizados, uma pequena parcela é empregada na fabricação de doces e geleias pela comunidade local (NETO *et al.*, 2019; ORTIZ; URBANO; TAKAHASHI, 2019; SILVA *et al.*, 2019). Observa-se na Figura 3 a polpa e o fruto do mandacaru.

Figura 3 - Fruto do Mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.)



Fonte: SANTOS *et al.*, (2020).

Estudos envolvendo o fruto do mandacaru revelam o potencial desta matéria-prima para utilização na indústria de alimentos, como Martins *et al.* (2020) que produziram geleias tipo extra com adição de fruto do mandacaru e maracujazeiro amarelo. Fidelis *et al.* (2015) elaboraram e caracterizaram sorvetes e iogurtes a partir do fruto do mandacaru e figo da índia e verificaram que os frutos utilizados apresentam grande potencial para uso na indústria, frente ao aproveitamento de cactáceas na elaboração de produtos alimentícios. Em seus estudos sobre a avaliação sensorial de iogurte caprino com polpa de mandacaru e maracujá, Ramos *et al.* (2020), observaram que o produto elaborado foi aceito pelos julgadores no teste de aceitação, proporcionando uma forma de utilização do fruto.

Matos *et al.* 2020, estudaram a produção de balas com uso da polpa do fruto do mandacaru saborizadas com maracujá e umbu e constataram o potencial do fruto para aplicação em processos industriais. Por outro lado, Moreira *et al.*, 2018 estudaram a cinética de secagem para obtenção do fruto desidratado em pó, evidenciando as características físico-químicas importantes do fruto para uso tecnológico e desta forma sugeriram uma alternativa para o aproveitamento do fruto do mandacaru. Estes processos visam o aproveitamento do fruto, evitando seu desperdício em sua safra e consequentemente a valorização de um fruto regional, bem como na economia local, ressaltando suas características para o emprego no processamento de alimentos, para elaboração de novos produtos no mercado de alimentos. A composição físico-química média do fruto do mandacaru encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição físico-química do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.)

Análises	Resultado
pH	3,73
Acidez Total Titulável (ATT)(g/100g)	0,22
Atividade de água (Aw)	0,99
Sólidos Solúveis Totais (SST)(°Brix)	11,03
Açúcares redutores (g/mL)	494,54
SST/ATT	50,15
Umidade (%)	85,79
Cinzas (%)	0,49
Proteínas (%)	2,02
Carboidratos (%)	16,26

Fonte: NETO *et al.*, (2019) e SILVA *et al.*, (2019).

Além de sua composição rica em açúcares, que pode ser útil em processos fermentativos para produção de bebidas alcoólicas, como vinhos e cervejas, o fruto do mandacaru apresenta potencial antioxidante, especificamente a polpa e a casca. Dentre as principais substâncias e caráter antioxidante presentes no fruto, destacam-se a vitamina C, compostos fenólicos, flavonoides e alguns carotenoides (LIMA *et al.*, 2016).

Melo *et al.* (2017), avaliaram o potencial antioxidante e compostos fenólicos da polpa do fruto do mandacaru colhidos em diferentes estágios de maturação e diferentes regiões do estado da Paraíba, e observaram que os frutos colhidos em estágios mais maduros, apresentaram maior caráter antioxidante, refletindo o potencial antioxidante do fruto. Semelhantemente, Santos *et al.*, 2020, investigaram o potencial antioxidante do fruto do mandacaru *in natura*, em seus estudos sobre o efeito da pasteurização nas propriedades bioativas no fruto e encontraram maiores valores de compostos fenólicos de 275,98 GEA mg/100g e 11,62 e 8,46 μ mol de Trolox/g para os métodos ABTS e DPPH, respectivamente, para a polpa *in natura*, reafirmando o conteúdo antioxidante do fruto.

Desta forma, torna-se perceptível que o fruto do mandacaru pode ser considerado uma alternativa promissora para utilização na produção de cervejas artesanais como adjunto, em função de sua composição química e propriedades bioativas, visando estimular seu cultivo, exploração e aplicação tecnológica para valorização regional da cadeia produtiva deste fruto.

2.3.6.2 Composição volátil, atividade antioxidante e compostos fenólicos em cervejas

A composição volátil das cervejas é atribuída a presença de grupos aromáticos relevantes que desempenham um papel fundamental no aroma e sabor final, dentre os quais, pode-se destacar: os ésteres, alcoóis superiores, ácidos orgânicos, compostos sulfarados, terpenos, aldeídos, hidrocarbonetos e dentre outros, sendo os ésteres e os alcoóis superiores, os componentes mais significativos para o perfil aromático das cervejas. A formação dos compostos voláteis é atribuída a atividade bioquímica da célula de levedura durante a fermentação e sofre impacto do tipo de levedura utilizada e dos ingredientes adicionados no processo de fabricação (OLANIRAN *et al.*, 2017; VIEJO *et al.*, 2019). Os ésteres conferem o aroma frutado e floral, e são os constituintes mais importantes e desejáveis para o aroma e sabor das cervejas, pois em baixas concentrações atuam de forma majoritária no perfil sensorial, sendo produzidos em maior número e podem ser divididos em 2 grupos: os ésteres de acetato e os ésteres etílicos. Como destaque, tem-se o acetato de isoamila (aroma de banana), acetato de etila (aroma frutado), hexanoato de etila (aroma de maçã) e octanoato de etila (maça ácida) (DZIALO *et al.*, 2017; PIRES *et al.*, 2014).

Os alcoóis superiores, além de influenciar no sabor, intensificam a percepção alcoólica e conferem a sensação de aquecimento na boca. Alguns alcoóis superiores conferem a bebida um aroma de rosas, como é o caso do álcool fenetílico, e do álcool isoamílico, responsável pelo aroma de banana e dentre outros. O etanol e glicerol são produtos voláteis resultantes do metabolismo primário das leveduras, apesar da baixa contribuição no aroma das cervejas, são fundamentais para o sabor final das bebidas (HE *et al.*, 2014; FLAVIIS *et al.*, 2022).

O potencial antioxidante das cervejas está associado a presença dos compostos fenólicos. São constituintes importantes na cerveja, uma vez que, atuam na prevenção de doenças cardiovasculares, degenerativas e crônicas e possuem ação anti-inflamatória. Além de contribuir com a atividade antioxidante, os compostos fenólicos estão relacionados na manutenção da estabilidade oxidativa e influência nas características sensoriais, como cor e sabor das cervejas, além de aumentar a vida útil (SILVA, DIAS, KOBLITZ, 2021).

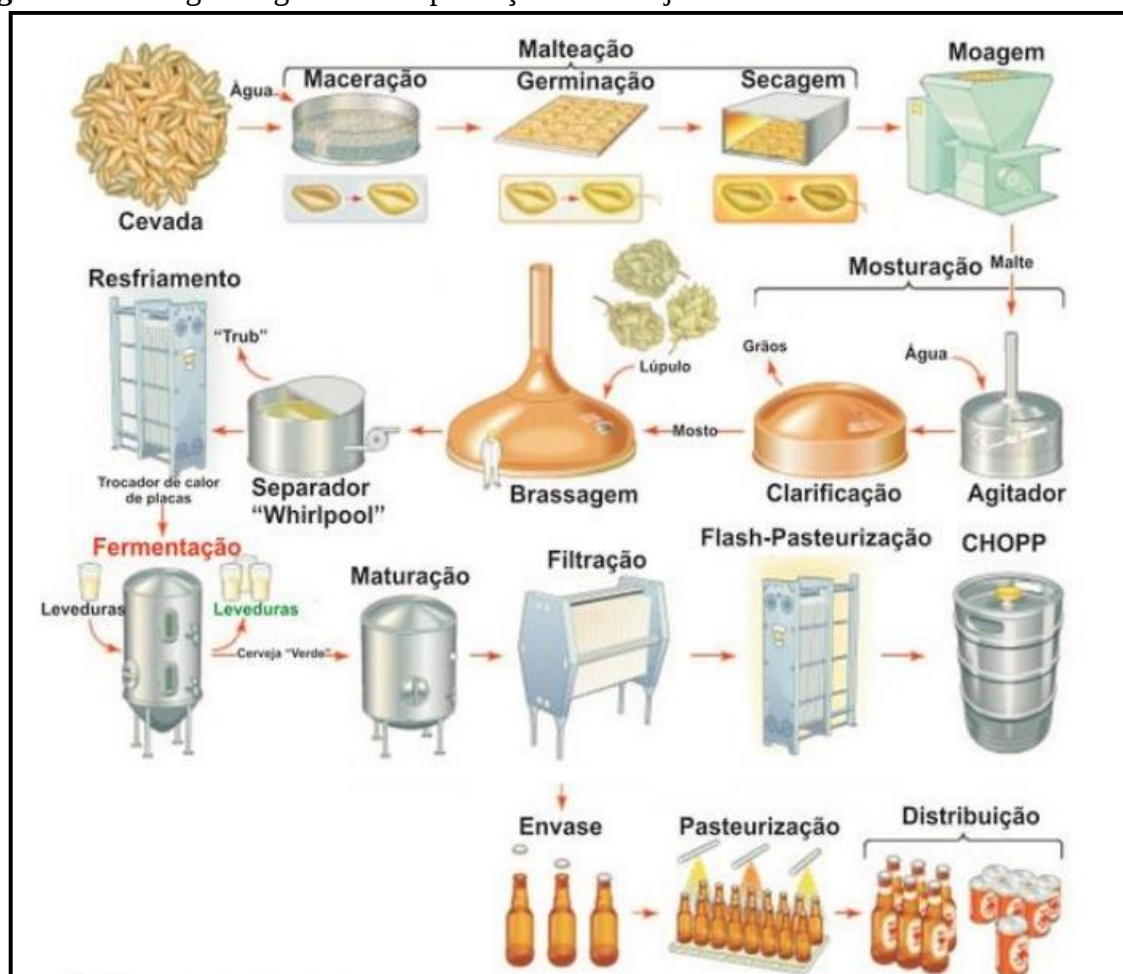
Diferentes classes de compostos fenólicos podem ser identificadas em cervejas, como os ácidos fenólicos (ácidos benzoicos e ácidos cinâmicos), flavonoides e taninos. Considerando alguns compostos fenólicos individuais, podem-se citar: a procianidinas, catequina, quercitina, ácido gálico, clorogênico e cafeico, hesperidina, rutina e entre outros (VIANA *et al.*, 2021). A concentração de compostos fenólicos nas cervejas pode variar de acordo com as matérias-primas utilizadas no processo de fabricação, como o uso de diferentes

tipos de malte e outros ingredientes que visam enriquecer seu potencial fenólico. Entretanto, grande parte dos compostos fenólicos é oriunda do malte e do lúpulo. Neste sentido, as frutas que são bem conhecidas por serem fontes de antioxidante naturais, como vitaminas (C e E) e compostos fenólicos, podem ser incorporadas na fabricação de cervejas com o intuito de aprimorar a composição fenólica destas bebidas, e consequentemente seu potencial bioativo, acarretando em benefícios à saúde do consumidor (GASINSKI *et al.*, 2020; KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2020; NARDINI; GARAGUSO, 2020; ZAPATA *et al.*, 2019).

2.4 PROCESSAMENTO DA CERVEJA

O processamento tradicional envolve algumas etapas que devem ser seguidas de acordo com a Figura 4, que apresenta um fluxograma genérico da produção de cerveja.

Figura 4 - Fluxograma genérico da produção de cerveja



Fonte: CARNEIRO (2010).

2.4.1 Malteação

A maltagem refere-se à fase onde o cereal é preparado para etapas seguintes do processo. O amido torna-se mais solúvel e digerível para as leveduras. A maltagem compreende três fases: maceração, germinação e secagem. Na maceração, água é fornecida aos grãos para que inicie a germinação parcial e a cevada seja convertida em malte, ou seja, os grãos são umidificados. A fase seguinte, a germinação, caracteriza-se por ser um processo controlado de temperatura, umidade, oxigênio e gás carbônico para ativar o complexo enzimático que degradam a estrutura celular do grão liberando amido, que será utilizado pelas leveduras na etapa de fermentação. A secagem é empregada para finalizar a germinação do grão, uma vez que o amido está disponível, a desumidificação do malte garante sua estabilidade, incorporando o sabor característico do malte a cerveja (NACHEL; ETTLINGER, 2013; NETO *et al.*, 2020; ROSA; AFONSO, 2015).

2.4.2 Moagem

A moagem do malte tem o intuito de reduzir o grão de maneira uniforme, para expor o endosperma do grão, obtendo uma melhor atuação enzimática devido ao aumento da área superficial, em razão da desintegração total do grão. Outro objetivo desta etapa refere-se à produção mínima de farinha com uma granulometria fina, a fim de evitar a formação de substâncias indesejáveis que produzam uma quantidade excessiva de pasta dentro da solução, interferindo na filtração, uma vez que, esta etapa pretende apenas quebrar a casca da cevada para expor o amido, sem esfarelar o grão (VENTURINI FILHO, 2016).

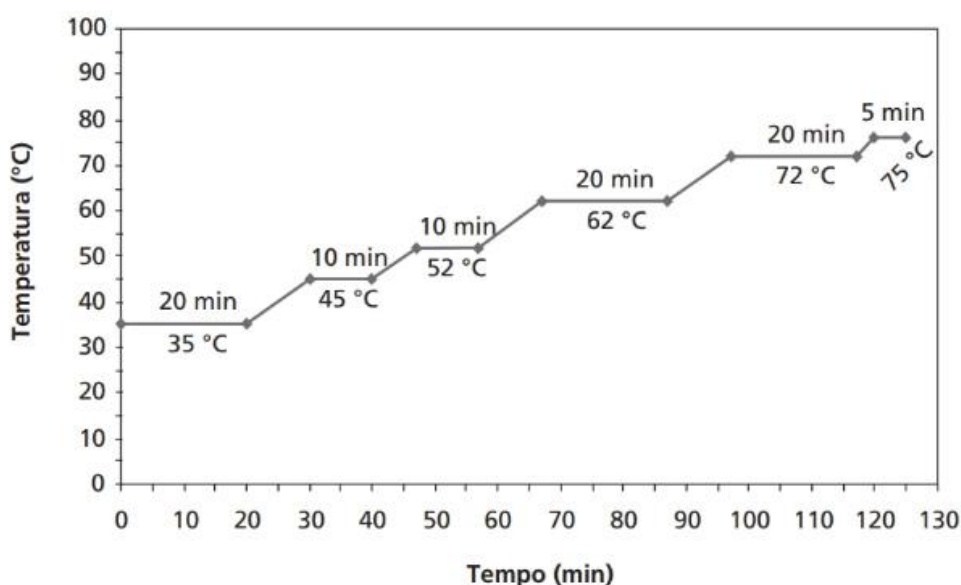
A etapa da moagem tem influência sobre a velocidade das transformações físico-químicas, rendimento, clarificação e consequentemente, na qualidade do produto final, pois o amido é preparado para sua hidrólise em etapas posteriores. A moagem é realizada nos moinhos que por sua vez, podem ser moinhos de rolos ou moinhos do tipo martelo. A escolha do tipo de moinho depende do recipiente que será utilizado na mosturação e filtração. Na moagem realizada com moinhos de rolos a casca é removida do grão e preservada. Por sua vez, o moinho do tipo martelo reduz o grão até três vezes menor que o moinho de rolo (VENTURINI FILHO, 2016).

2.4.3 Mosturação

Depois de moídos, os grãos são misturados em tanques de mosturação, com água em temperatura controlada, para solubilizar as substâncias do malte e ativar as enzimas que irão hidrolisar o amido, devido a isso, deve-se levar em consideração a temperatura, pH e tempo. A temperatura não deve ultrapassar 75 °C para que as enzimas não sejam inativadas e o pH ideal situa-se entre 5,1 e 5,7. Apesar da existência do limite máximo de temperatura que o mosto deve alcançar, a etapa de mosturação como um todo ocorre em diferentes temperaturas, com o objetivo de ativação de enzimas específicas que atuarão no processo (MORADO, 2009).

A Figura 5 apresenta a variação de temperatura de acordo com o tempo que ocorre na mosturação.

Figura 5 - Variação de temperatura em função do tempo na mosturação



Fonte: VENTURINI FILHO (2016).

Iniciando a mosturação a 35 °C, as substâncias presentes no malte são solubilizadas na água, resultando no mosto. A ativação enzimática ocorre entre 40 e 45 °C, onde as enzimas oriundas do malte entram em solução, facilitando a dissolução no amido. A quebra de algumas proteínas do malte dá-se entre 50 e 55 °C, formando proteínas menores. Entre 60 e 72 °C a α e β -amilase estão envolvidas nesta fase, uma vez que, regulando a ação destas no amido, é obtido o corpo da cerveja, pois ocorre a conversão do amido em açúcares fermentescíveis. Na fase final do diagrama de temperatura, entre 72 e 75 °C verifica-se a

inativação enzimática, para que a sacarificação seja finalizada e não interferir na filtração (MORADO, 2009; VENTURINI FILHO, 2016).

2.4.4 Filtração

A filtração tem o intuito de separar o bagaço de malte, do mosto líquido, reduzindo sua turbidez e deixando-o límpido, isto é, clarificado. Nesta etapa são retirados os sólidos insolúveis do mosto (bagaço) que pode ser utilizado para ração animal e outras impurezas também são removidas. Esta etapa torna-se fundamental para a qualidade final da cerveja que será fabricada, pois os sólidos eliminados contêm proteínas e algumas enzimas coagulantes, resquícios de amido não hidrolisado, que são capazes de modificar o aroma e sabor do produto final (JUNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009).

A fase primária da filtração é caracterizada pela obtenção do mosto primário, em que o líquido passa por meio das cascas de malte localizadas no fundo do recipiente de filtração. Por outro lado, na fase secundária, as cascas são lavadas com água para maior rendimento do processo, pois ainda possuem açúcares retidos na estrutura. Atualmente, são utilizados filtros de terra diatomácea, separadores centrífugos ou clarificadores e filtros prensa (JUNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009; MORADO, 2009).

2.4.5 Fervura

A fervura tem por objetivo a estabilização bioquímica devido à inativação de enzimas e desnaturação de proteínas de alto peso molecular, esterilização do mosto, evaporação de água excedente e a extração dos compostos amargos e aromáticos. Nesta etapa é adicionado o lúpulo, e durante a fervura são extraídos seus compostos aromáticos e ocorre a liberação de óleos essenciais, tornando-se mais amargo e solúvel, uma vez que a lupulina será liberada no mosto (VENTURINI FILHO, 2016).

A caramelização dos açúcares também ocorre na fervura, fornecendo cor a cerveja, devido aos aminoácidos presentes. No entanto, esta etapa deve ser controlada a fim de evitar reações de escurecimento não-enzimático, intensificando a cor do mosto negativamente, afetando a qualidade do produto final. O tempo de fervura depende do tipo de lúpulo empregado, geralmente este tempo oscila entre 60 e 90 minutos a 100 °C. Após a fervura, o mosto é tratado para retirada de alguns precipitados remanescente, por meio da ação de força centrípeta em um equipamento denominado *whirlpool*, onde os sólidos decantam.

2.4.6 Resfriamento do mosto

A depender do tipo de cerveja que será produzida, o mosto é resfriado a temperaturas pré-definidas. Para as cervejas tipo *Lager*, o mosto é resfriado a temperaturas que variam entre 7 e 15 °C. Por outro lado, para cervejas tipo *Ale* resfria-se entre 18 e 22 °C. O resfriamento tem por finalidade evitar a oxidação e contaminação por micro-organismos indesejáveis, por isso, deve ocorrer de forma rápida. Geralmente esta etapa é realizada em trocadores de calor de placas (VENTURINI FILHO, 2016). Após o resfriamento, o mosto é aerado, para disponibilizar oxigênio para as leveduras fermentativas.

2.4.7 Fermentação

Refere-se à etapa de conversão dos açúcares em etanol e gás carbônico por meio das leveduras, sendo a etapa crucial para produção de cerveja. Simultaneamente, ocorre a formação de outros compostos aromáticos e outras substâncias que não são desejáveis, por este fato, a fermentação deve ser monitorada a fim de evitar os compostos indesejáveis, que são considerados subprodutos da fermentação. O início da fermentação caracteriza-se pelo elevado teor de açúcar no mosto, sendo os principais substratos: a glicose e a maltose, que serão consumidos primeiramente para multiplicação das leveduras (MORADO, 2013).

De modo geral, além das fontes de carbono oriundo dos açúcares, as leveduras utilizam as fontes de nitrogênio para fermentação, sendo estes, os aminoácidos oriundos da proteólise do malte, além de ácidos nucleicos. Com o decorrer da fermentação, o pH do mosto tende a diminuir devido a produção de ácidos orgânicos, com isso a cerveja geralmente apresenta um pH variando entre 4,3 e 4,6, com algumas exceções. Normalmente a etapa de fermentação ocorre a 18 °C por cinco a sete dias. Ao final da fermentação, as leveduras decantam ou flutuam, a depender do tipo de fermentação utilizada, então, o micro-organismo será recolhido e poderá ser utilizado em uma posterior fermentação, geralmente pode-se utilizar a mesma levedura de quatro a seis vezes (VENTURINI FILHO, 2016).

2.4.8 Maturação

Ao fim da fermentação, a cerveja é transferida para um tanque de maturação, para que sejam refinadas as características sensoriais da bebida. Nesta etapa, ocorrem modificações

desejáveis no aroma e sabor da cerveja devido à formação de alguns ésteres e álcoois. Esta etapa dá-se em temperaturas de 0 a 3 °C e o tempo pode variar conforme o tipo de cerveja. Cervejas tipo *Ale* fermentam por 1 a 4 semanas. As cervejas *Lager* podem fermentar por 30 ou 40 dias. Nesta etapa, ocorre a decantação e floculação de algumas partículas que serão eliminadas na etapa posterior (JUNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009). Contudo, esta etapa deve ser monitorada, pois afetará a qualidade da cerveja se for realizada de forma muito rápida ou muito lenta.

2.4.9 Filtração

As partículas coloidais que foram formadas na maturação, assim como as substâncias insolúveis, são eliminadas nesta etapa, deixando a cerveja clarificada, brilhante, transparente e livre de impurezas. Esta etapa tem o objetivo de aumentar a estabilidade da cerveja em termos microbiológicos e sensoriais. Existem técnicas para clarificação ou filtração da cerveja que podem ser utilizadas de forma individual ou combinadas, como a sedimentação por gravidade; uso de agentes clarificantes; centrifugação ou filtração. Após a filtração, a cerveja segue para o envase, pasteurização e posterior distribuição e comercialização (VENTURINI FILHO, 2016).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Para elaboração da cerveja foi utilizado malte de trigo (*White Swaen Classic*) e malte *pilsen*, lúpulo Citra® (13,8 % de α -ácidos) e levedura comercial liofilizada Widbrew™ Philly Sour (*Lachancea spp.*), que foram adquiridos no mercado local da cidade de Recife – PE. A água mineral foi adquirida na Universidade Federal da Paraíba. Os frutos do mandacaru utilizados no experimento foram adquiridos na zona rural (sítios Jaramataia e Farias) da cidade de Parari – PB (Latitude: 7°18'58"Sul e longitude: 36°39'20"Oeste), localizada na região do Cariri no estado da Paraíba e colhidos maduros (coloração vermelha intensa e ausência de defeitos) (Figura 6).

Figura 6 - Matérias-primas (malte Pilsen, malte de trigo e levedura) e fruto do mandacaru utilizadas para produção das cervejas



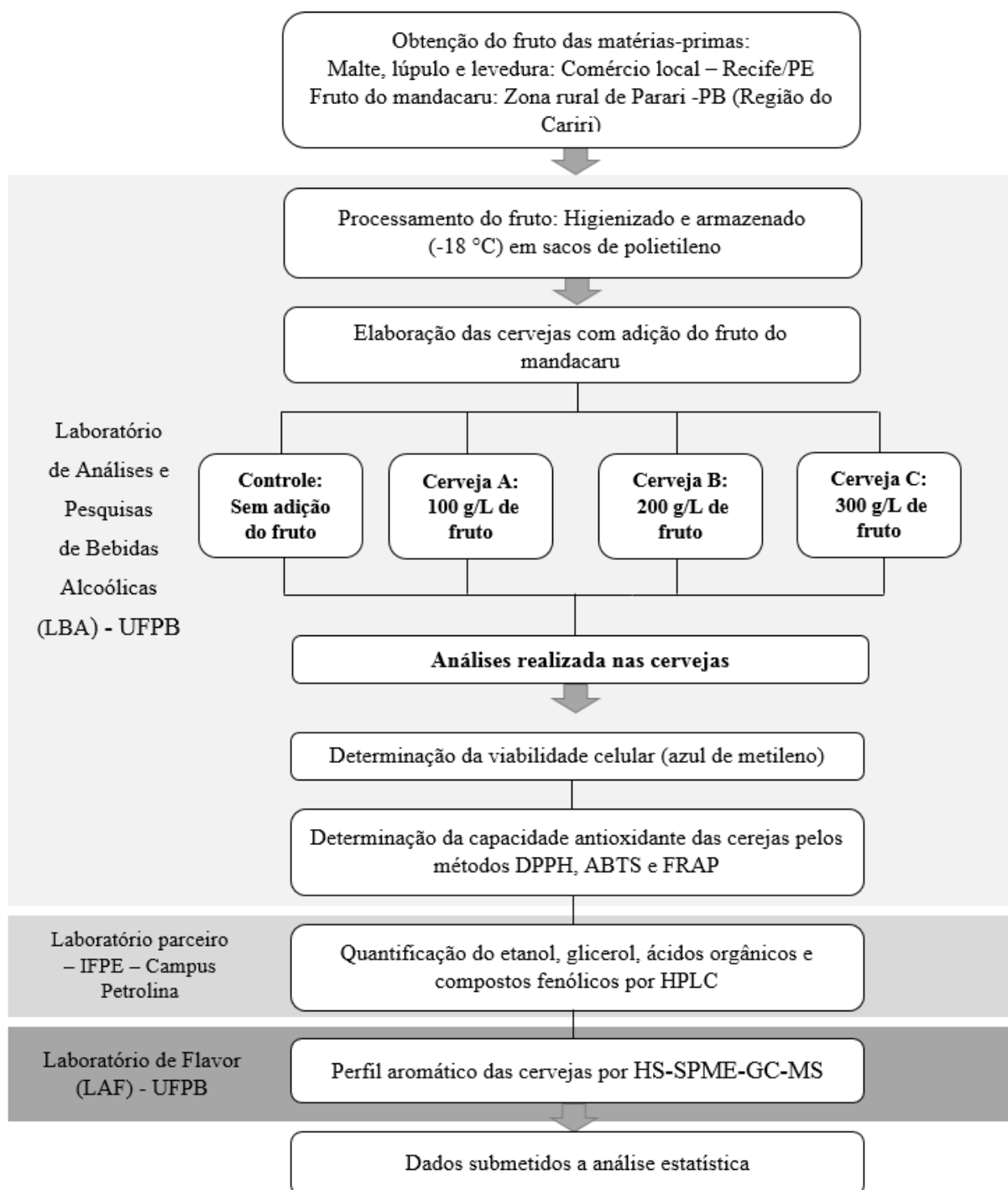
Fonte: Próprio autor (2021).

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As atividades desenvolvidas nesta pesquisa foram executadas na Universidade Federal da Paraíba (UFPB – Campus I) e no Instituto Federal de Pernambuco (IFPE - Campus Petrolina). A Figura 7 resume todas as etapas que foram executadas neste trabalho. Inicialmente, foi realizada a obtenção das matérias-primas (malte, lúpulo e levedura) utilizadas na fabricação das cervejas, bem como a obtenção do fruto do mandacaru na região do Cariri, no Estado da Paraíba. Os frutos foram devidamente higienizados e armazenados sob congelamento (-18 °C) até sua utilização.

Para elaboração das cervejas, foram propostas três formulações com adição de diferentes concentrações de fruto do mandacaru: a cerveja A com 100 g/L, a cerveja B contou com 200 g/L e por fim a cerveja C com 300 g/L. Além da formulação controle (sem adição do fruto), para verificar a influência do adjunto nos produtos finais que foram avaliados, totalizando 4 tratamentos. As cervejas foram produzidas no Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA) – Campus I da UFPB, assim como as análises de atividade antioxidante, avaliada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP e a determinação da viabilidade celular (Figura 7).

Por sua vez, as análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE, foram realizadas para determinar as concentrações de etanol, glicerol, ácidos orgânicos e compostos fenólicos e executadas em parceria com o laboratório do IFPE – Campus Petrolina. Por fim, as análises de compostos voláteis foram realizadas no Laboratório de Flavor (LAF) da UFPB – Campus I, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS), utilizando a técnica de micro extração em fase sólida (SPME).

Figura 7. Delineamento experimental da pesquisa

Fonte: Próprio autor (2022).

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Processamento do fruto do mandacaru

O fruto do mandacaru foi devidamente lavado em água corrente e higienizado com solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos e enxaguados (Figura 7). Após o descasque e corte, o fruto foi submetido ao despulpamento, através de um corte longitudinal com utensílios higienizados. O material foi armazenado em sacos de polietileno e armazenados em freezer a -18 °C, até o momento do uso.

Figura 8 - Fruto do mandacaru sendo higienizado (A) e armazenado em sacos plásticos (B)



Fonte: Próprio autor (2021).

3.3.2 Formulações da cerveja com adição do fruto do mandacaru

As formulações das cervejas foram determinadas por meio do software BeerSmith2[®], que auxilia no cálculo das matérias-primas para a produção de cerveja, sendo uma ferramenta que conduz os experimentos com maior precisão e adequa os dados ao estilo de cerveja proposto, para alcançar as características esperadas. Neste estudo, o software seguiu os padrões de características esperadas para o estilo *Berliner Weiss* descritas pelo BJCP (2015). Desta forma, as quantidades de cada matéria-prima foram determinadas com base no software para produzir em média 20 litros de cervejas para cada formulação proposta (Tabela 2). A adição do fruto do mandacaru foi realizada no quarto dia de fermentação, uma vez que o ambiente estava hostil para os microrganismos contaminantes, com o pH ácido e o álcool formado, reduzindo o risco de contaminação.

Tabela 2 - Matérias-primas utilizadas na fabricação de cerveja com adição do fruto do mandacaru

Maltes	Lúpulo	Levedura
Pilsen – 50 % Trigo (White Swaen [©] Classic) – 50 %	Citra [®] - Barth-Hass: Safra 2020 – Pallet T90 (0,1 g/L)	Philly Sour – <i>Lachacea</i> spp. (0,5 g/L)

Fonte: Próprio autor (2021).

Foram produzidas três formulações de cervejas, que foram elaboradas com as mesmas quantidades de malte, lúpulo e leveduras, distinguindo-se apenas na concentração de fruto adicionada (Tabela 3). A concentração de fruto para cada formulação foi calculada em relação ao volume de mosto. Na formulação A foi adicionado 100 g/L de fruto, na formulação B, 200 g/L do fruto e na formulação C, 300 g/L do fruto do mandacaru. A formulação controle foi elaborada para título de comparação, sem adição do fruto, seguindo as proporções de matéria-prima já mencionadas. As quantidades de fruto foram escolhidas baseadas nas cervejas de frutas clássicas, já presentes no mercado descritas por Nardini e Garaguso (2020).

Tabela 3 - Formulações das cervejas com adição do fruto do mandacaru

Formulação	Concentração de fruto adicionado (g/L)*
Controle	-
A	100
B	200
C	300

*Concentração de fruto do mandacaru calculada em relação ao volume do mosto.

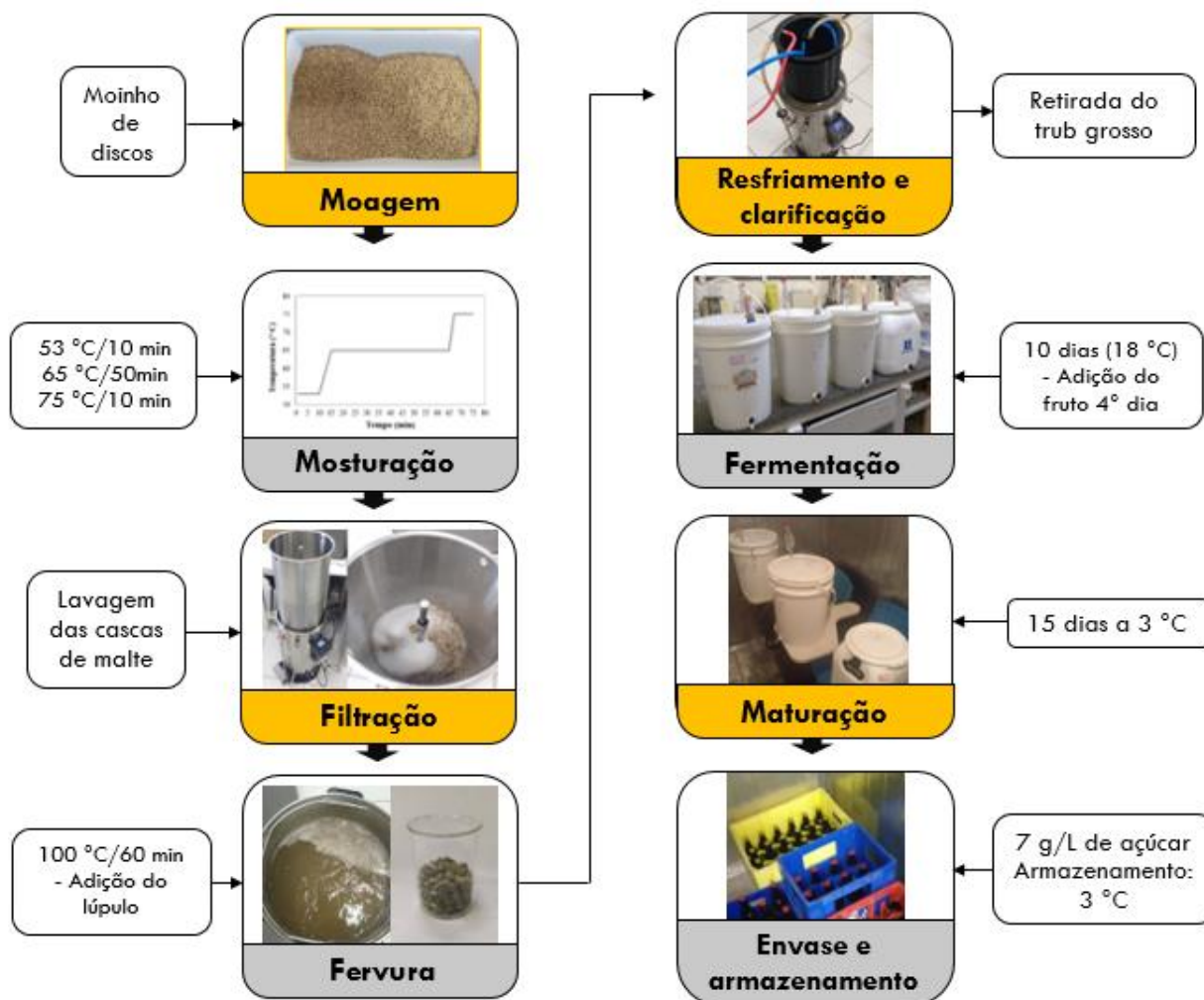
Fonte: Próprio autor (2021).

Em relação a levedura comercial, foi utilizada a do gênero *Lachancea* spp., originada da Filadélfia – EUA, sendo este utilizado para fabricação do estilo *Berliner Weisse*, que foi ativada, conforme as recomendações do fabricante. O inóculo foi preparado com concentração celular média de 3×10^9 células/mL, verificados em câmara de Neubauer.

3.3.3 Preparação das cervejas com adição do fruto do mandacaru

As cervejas foram fabricadas segundo a metodologia proposta por Venturini Filho (2016), com adaptações descritas no fluxograma (Figura 8) e foi realizada com o auxílio de uma máquina para produção de cerveja The GrainFather®.

Figura 9 - Fluxograma de elaboração da cerveja com fruto do mandacaru



Fonte: Próprio autor (2021).

3.3.3.1 Moagem

Após a pesagem, os maltes de trigo e o malte base (Pilsen) foram moídos em moinhos de discos, com o objetivo de promover o corte na casca e expor o amido, de acordo com a Figura 9.

Figura 10 - Maltes moídos utilizados na fabricação da cerveja com adição do fruto do mandacaru

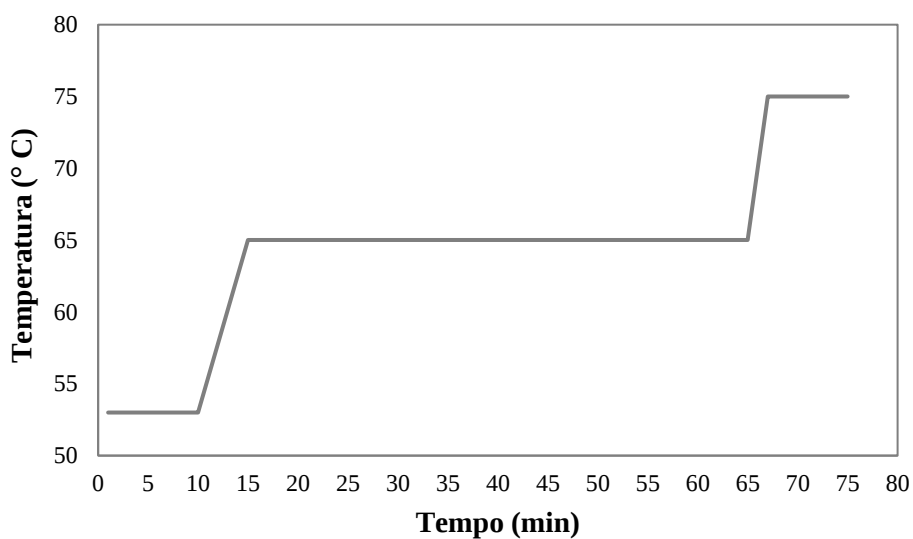


Fonte: Próprio autor (2021).

3.3.3.2 Mosturação

Após a moagem, o malte foi submetido à mosturação, sendo imerso em água pré-aquecida, e mantidos a 53 °C por 10 minutos e, em seguida, a 65 °C por 50 minutos, para ativar as enzimas necessárias para conversão de açúcares complexos em açúcares fermentescíveis. Transcorrido este tempo, a temperatura foi elevada para 75 °C por 10 minutos, sendo esta fase denominada *mash out*, que se refere à desativação enzimática. O produto resultante desta etapa é designado de mosto. A Figura 10 apresenta a variação de temperatura em função do tempo na mosturação que foi utilizada na cerveja com adição do fruto do mandacaru.

Figura 11 - Variação de temperatura em função do tempo na mosturação empregada na cerveja com adição do fruto do mandacaru



Fonte: Próprio autor (2021).

3.3.3.3 Filtração

A filtração do mosto foi realizada no recipiente de mostura, que estava equipado com um fundo falso, para separar a fase sólida da fase líquida do mosto. As cascas do malte atuaram como agente filtrador, obtendo o mosto primário. Em seguida, a torta do bagaço de malte foi lavada com água aquecida (75 °C) para extrair açúcares residuais do bagaço do malte (filtração secundária), sendo utilizada no processo de acordo com a Figura 11.

Figura 12 - Filtração do mosto das cervejas estudadas

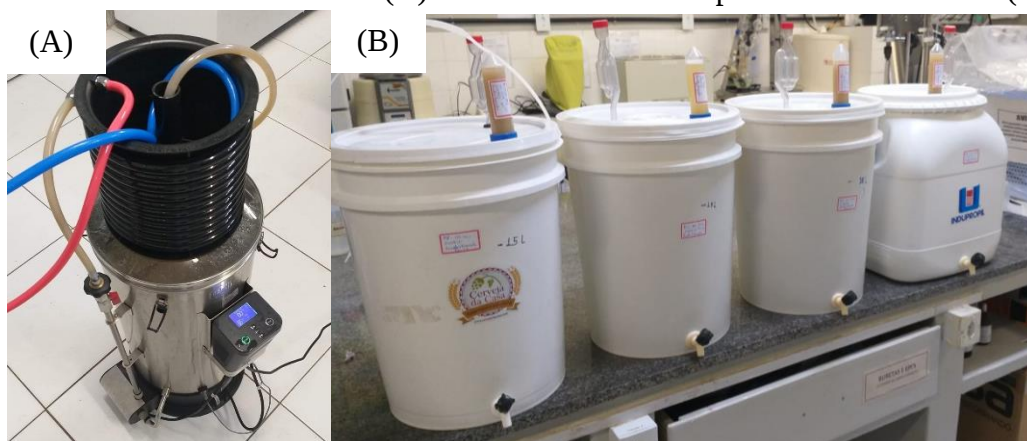


Fonte: Próprio autor (2021).

3.3.3.4 Fervura, resfriamento e clarificação

Após a filtração, o mosto foi submetido à fervura a 100 °C por 60 minutos no próprio equipamento, onde foi adicionado o lúpulo no início desta etapa. Transcorrido o tempo de fervura, o mosto foi resfriado a 25 °C, com o auxílio de um *chilling*, onde foi clarificado mediante a uma movimentação circular formando um vórtex no centro da tina, para decantar os resíduos sólidos (trub) e assim, o mosto foi transferido para o fermentador de 30 L (Figura 12).

Figura 13 - Resfriamento do mosto (A) e mostos transferidos para os fermentadores (B)



Fonte: Próprio autor (2021).

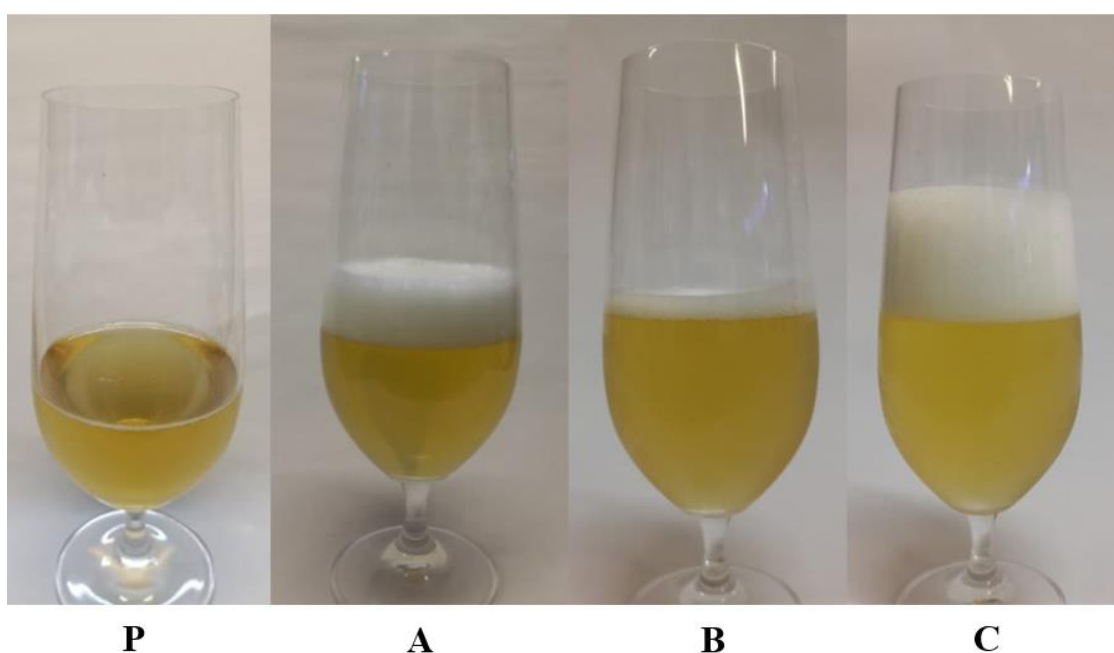
3.3.3.5 Fermentação e maturação

Após a clarificação, o mosto foi transferido para o fermentador e inoculado as leveduras, seguindo as recomendações do fabricante. A fermentação ocorreu durante 10 dias a 18 °C em câmara fria, o fruto do mandacaru foi adicionado no quarto dia em *hop bags* e a fermentação prosseguiu até o decimo dia. Após a fermentação, com a estabilização no teor dos sólidos solúveis totais, as cervejas foram maturadas por 15 dias à 3 °C.

3.3.3.6 Envase e armazenamento

Antes de envasadas, as cervejas foram transferidas (trasfega) do fermentador para outro recipiente limpo e esterilizado, a fim de separar as leveduras decantadas. O *priming* (adição de açúcar invertido) foi realizado com o intuito de produzir CO₂ para carbonatação das cervejas. Desta forma, foram adicionados 7 gramas de açúcar para cada litro de cerveja, e seguiu-se para o engarrafamento em garrafas de 500 e 600 mL. A carbonatação foi realizada em temperatura ambiente (± 25 °C) durante 15 dias. Após este tempo, diminuiu-se a temperatura para 3 °C para o armazenamento em câmara fria. A cerveja padrão (sem adição do fruto) e as cervejas com adição do fruto do mandacaru, estão representadas na Figura 13.

Figura 14. Cerveja padrão e cervejas com adição do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.)



Fonte: Próprio autor (2021).

3.3.4 Determinação da viabilidade celular

A viabilidade celular foi determinada para verificar a influência da adição do fruto do mandacaru no crescimento da levedura, sendo uma resposta ao desempenho da fermentação e na formação dos produtos finais. A viabilidade foi realizada em câmara de Neubauer (1/400 mm² x 11/10 mm), utilizando a coloração diferencial das células pela solução de azul de metileno (0,01%) (WHITE, ZAINASHEFF, 2010), ao final da fermentação. O cálculo da viabilidade considerou a diferença entre as células vivas e mortas, e foi determinado de acordo com a Equação 1:

$$Viabilidade (\%) = \left(\frac{n^{\circ} \text{ total de células vivas}}{(n^{\circ} \text{ de células vivas} + n^{\circ} \text{ células mortas})} \right) \times 100 \quad (1)$$

3.3.5 Determinação da capacidade antioxidante das cervejas

3.3.5.1 Método de sequestro de radicais livres ABTS^{•+} (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

O cátion ABTS^{•+} foi formado a partir da reação de soluções aquosas de 7 mM de ABTS e 2,45 mM de persulfato de potássio (1:1 v/v) por 16 h, à temperatura ambiente e na ausência de luz. Transcorrido esse tempo, a solução radical ABTS^{•+} foi diluída em água para uma absorbância de 0,700 ($\pm$ 0,05), a 734 nm. Alíquota de 30 µL da amostra de cerveja diluída foi adicionada em tubos de ensaio, juntamente com 3000 µL da solução do radical ABTS^{•+} e incubadas sob proteção da luz por 6 min no escuro, em seguida a mistura foi lida a 734 nm (KAWA-RYGIELSKA *et al.*, 2019). Os resultados foram expressos em mmol Trolox equivalente da capacidade antioxidante por litro da cerveja (mmol TEAC/L), com base em uma curva padrão de Trolox (0 – 2000 µM TEAC/L).

3.3.5.2 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 Rufino *et al.* (2009). O método consistiu na preparação do radical DPPH[•] a 80 µM. Em seguida 180 µL da solução foram adicionados em 100 µL da amostra diluída em tubos de

ensaio. Após 30 min no escuro, a absorbância foi mensurada a 515 nm. Os resultados foram expostos em mmol equivalentes de TEAC/L.

3.3.5.3 Atividade antioxidante pela Redução do complexo férrico (FRAP)

Para a determinação da atividade antioxidante total pelo método da redução de ferro (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP), foi utilizada a metodologia descrita por Kawa-Rygielska *et al.* (2019), com modificações. O reagente FRAP foi obtido a partir da combinação de uma solução tampão de acetato, TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) e uma solução aquosa de cloreto férrico (pH 3,6), que foram utilizadas após a sua preparação. Em ambiente escuro, alíquota de 90 µL das amostras de cerveja diluídas foi adicionada em tubos de ensaio, e foram acrescentados 270 µL de água destilada juntamente com 2700 µL do reagente FRAP que foi preparado. Em seguida os tubos de ensaio foram homogeneizados e encaminhados ao banho-maria a 37°C por 30 minutos. Após isso, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 593 nm, empregando Trolox como padrão. Os resultados foram comparados com uma curva padrão de Trolox (0 - 1200 µM).

3.3.6 Perfil de etanol, glicerol, ácidos orgânicos e compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

3.3.6.1 Preparo da amostra

As amostras de cervejas foram submetidas a remoção do gás carbônico por meio de banho ultrassônico, centrifugadas (4000g x 15min) e previamente diluídas em água ultra pura e em seguida, filtradas em filtros 0,45µm Millex-HA (Millipore Co., Bedford, MA).

3.3.6.2 Separação e identificação do etanol e glicerol

O etanol e glicerol foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção refrativa (RID) de acordo com Ball e Lloyd (2011). O fluxo de solvente foi de 0,8 mL/min e a coluna de troca iônica Agilent Hi-Plex H (300 x 7,7 mm) com partículas internas de 8 µm e protegida por uma pré-coluna PL Hi-Plex H (5x 3 mm) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). A temperatura de separação foi de 60 °C, com 20 min de corrida. A fase móvel contou com 0,004 mol/L de H₂SO₄ e a detecção dos compostos

ocorreu por comparação com os padrões externos e a metodologia validada quanto a linearidade, recuperação e limites de detecção e quantificação (VIANA *et al.*, 2021).

3.3.6.3 Separação e identificação dos ácidos orgânicos e açúcares

Ácidos orgânicos das cervejas e açúcares do mosto foram determinados simultaneamente por HPLC, como descrito por Coelho *et al.* (2018). Os filtrados foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) 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 açúcares foram realizadas a 210 nm e as condições analíticas foram: uma coluna Agilent Hi-Plex H (7.7 x 300mm, 8 μ m); H₂SO₄ 4mmol/L em água ultrapura como fase móvel (fluxo de 0,6 mL/min para açúcares e 0,7 mL/min para ácidos orgânicos).

3.3.6.4 Separação e identificação dos compostos fenólicos

Para os compostos fenólicos, as colunas utilizadas para separar os compostos foram Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 x 4.6mm, 3.5 μ m) e Zorbax C18 (12.6 x 4.6mm, 5 μ m). 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; 320 nm para ácidos caftarico, cafeico e clorogênico; 360nm para kaempferol 3-glucosideo, quercetina 3-glucosidio e rutina e 520 nm para cianidina 3,5-diglucosidio e delphinidina 3-glucosidio.

Os picos dos compostos analisados 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 apresentaram as curvas calibradas com $R^2 > 0.998$.

3.2.8 Perfil aromático das cervejas por cromatografia gasosa

A extração dos compostos voláteis foi realizada utilizando-se a técnica de micro extração 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 15 mL 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 10 min. 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).

3.2.9 Análise estatística

Os dados obtidos nas análises propostas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), juntamente com o teste de Tukey a 5 % de probabilidade, utilizado para a determinação de diferenças entre as médias obtidas de cada tratamento, com o auxílio do *software* STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). O valor de padronização

(Standardization value) foi calculado utilizando a equação, $T_x - T_0$ (RIBEIRO-FILHO *et al.*, 2021), considerando a comparação entre a concentração do composto entre os tratamentos das cervejas com adição do fruto do mandacaru (T_x) e da cerveja sem adição de fruto (T_0).

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada para o etanol, glicerol, ácido acético, atividade antioxidante, compostos antioxidante e compostos voláteis para facilitar a interpretação dos dados e nas correlações entre os tratamentos e amostras. Adicionalmente, as variáveis utilizadas no PCA foram determinadas pelo teste de correlação de Spearman sendo removidas variáveis com correlação acima de 90%, e foi realizada utilizando o *software* Minitab 18.0, em virtude da quantidade de compostos avaliados.

REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, M.; FREITAS-SÁ, D. G. C. Metodologias sensoriais descritivas mais rápidas e versáteis—uma atualidade na ciência sensorial. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bjft/a/D9JsdtYYvNhWHPxfYWPLgBL/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 18 jun. 2022.
- ARAÚJO, G. B. L.; SANTANA, L. C. L. Avaliação da casca do fruto e do caule do mandacaru como fontes de compostos fenólicos totais antioxidantes através da obtenção de extratos pelas técnicas de maceração e ultrassom. **Scientia Plena**, v. 16, n. 9, 2020. Disponível em: <<https://scientiaplena.emnuvens.com.br/sp/article/view/5737/2323>>. Acesso em: 18 abr. 2022.
- BAMFORTH, C.; RUSSEL, I.; STEWART, G. **Beer – A quality Perspective. Handbook of alcoholic beverages series**. Volume 1. USA: Academic Press. 304p., 2009.
- BARROS, A. A.; BARROS, E. B. P. A química dos alimentos: Produtos fermentados e corantes. **Sociedade Brasileira de Química (Coleção Química no cotidiano)**, v. 4, n.1, p. 30-32, 2010. Disponível em: <<http://edit.s bq.org.br/pagina/quimica-alimentos.php>>. Acesso: 20 jul. 2020.
- BALL, S.; LLOYD, L. Analysis of typical components of alcoholic beverages. In S. Ball, S. Bullock, L. Lloyd, K. Mapp, & A. Ewen (Eds.), Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography (pp. 1–2). Santa Clara, CA, USA: **Agilent Technologies Inc**. Disponível em: <<https://www.agilent.com/cs/library/applications/5990-8801EN%20Hi-Plex%20Compendium.pdf>>. Acesso: 18 de mai. 2022.
- BETTENHAUSEN, H. M.; BARR, L.; BROECKLING, C. D.; CHAPARRO, J. M.; HOLBROOK, C.; SEDIN, D.; HEUBERGER, A. L. Influence of malt source on beer chemistry, flavor, and flavor stability. **Food research international**, v. 113, p. 487-504, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996918305623>>. Acesso em: 22 dez. 2021.
- BJCP. **BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM 2015 STYLE GUIDELINES. Beer Style Guidelines**. [S.l: s.n.], 2015. Disponível em: <www.bjcp.org>. Acesso em: 5 ago. 2020.
- BLAND, J. S.; MINICH, D.; LERMAN, R.; DARLAND, G.; LAMB, J.; TRIPP, M.; GRAYSON, N. Isohumulones from hops (*Humulus lupulus*) and their potential role in medical nutrition therapy. **PharmaNutrition**, v. 3, n. 2, p. 46-52, 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213434415000134>>. Acesso em: 29 dez. 2021.
- BOCQUET, L.; SAHPAZ, S.; HILBERT, J. L.; RAMBAUD, C.; RIVIÈRE, C. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochemistry reviews**, v. 17, n. 5, p. 1047-1090, 2018. Disponível em: <<https://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=US201900043556>>. Acesso em: 22 dez. 2021.

BOGDAN, P.; KORDIALIK-BOGACKA, E. Alternatives to malt in brewing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p. 1-9, 2017. Disponível em: <researchgate.net/publication/316804672_Alternatives_to_malt_in_brewing>. Acesso em: 14 jul. 2020.

BORTOLI, D. A. S.; SANTOS, F.; STOCCO, N. M.; ORELLI, A.; TOM, A.; NEME, F. F.; NASCIMENTO, D. D. Leveduras e produção de cervejas – Revisão. **Bioenergia em revista: Diálogos**. n.1, p. 45-58, 2013. Disponível em: <http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/>. Acesso: 15 mai. 2020.

BRASIL. **Instrução Normativa nº65, de 10 de dezembro de 2019**. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: 11 jul. 2020.

BREDA, C.; BARROS, A. I.; GOUVINHAS, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant capacity of Portuguese craft beers. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 27, p. 100473, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100473>>. Acesso em: 18 jun. 2022.

CAMARA, N. M.; OLIVEIRA, T. L. S. Uso medicinal do *Cereus jamacaru* D. C.(Mandacaru): uma revisão. **Recima21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218**, v. 2, n. 6, p. e26405-e26405, 2021. Disponível em: <<https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/405>>. Acesso em: 18 abr. 2022.

CAMOCARDI, A. F.; FERREIRA, E. B. Perfil metodológico de experimentos sensoriais de alimentos de 2014 a 2019. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 12, p. 1-16, 2020. Disponível em: <<https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/15962/16391>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

CAPECE, A.; ROMANIELLO, R.; PIETRAFESA, A.; SIESTO, G.; PIETRAFESA, R.; ZAMBUTO, M.; ROMANO, P. Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. bouldarii in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added. **International journal of food microbiology**, v. 284, p. 22-30, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29990636/>>. Acesso em: 20 dez. 2021.

CARVALHO, D. O.; GONÇALVES, L. M.; GUIDO, L. F. Overall antioxidant properties of malt and how they are influenced by the individual constituents of barley and the malting process. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 15, n. 5, p. 927-943, 2016. Disponível em: <<https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12218>>. Acesso em: 29 dez. 2021.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1º Parte - As Leveduras. **Revista Analytica**, v. 25, n.5, p. 36-42, 2006. Disponível em: http://bizuando.com/material-apoio/processos-qi2/Artigo_Analitica_1_As_Leveduras.pdf. Acesso em: 10 jul. 2020.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1º Parte - As Leveduras. **Revista Analytica**, v. 25, n.5,

p. 36-42, 2006. Disponível em: http://bizuando.com/material-apoio/processos-qi2/Artigo_Analitica_1_As_Leveduras.pdf. Acesso em: 10 jul. 2020.

CASTRO, R.; DÍAZ, A. B.; DURÁN-GUERRERO, E.; LASANTA, C. Influence of different fermentation conditions on the analytical and sensory properties of craft beers: Hopping, fermentation temperature and yeast strain. **Journal of Food Composition and Analysis**, p. 104278, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157521004786#!>>. Acesso em: 26 dez. 2021.

CERVBRASIL. 2020. **Associação Brasileira da Indústria da Cerveja: Anuário 2020**. Disponível em: http://www.cervbrasil.org.br/novo_site/wp-content/uploads/2021/04/anuariocerveja2.pdf. Acesso em: 21 dez. 2021.

COELHO, E.; MAGALHÃES, J.; PEREIRA, F. B.; MACIEIRA, F.; DOMINGUES, L.; OLIVEIRA, J. M.; Volatile fingerprinting differentiates diverse-aged craft beers. **LWT**, v. 108, p. 129–136, 1 jul. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819302397>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

D'AVILA, R. F.; LUVIELMO, M. M.; MENDONÇA, C. R. B.; JANTZEN, M. M. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60-68, 2012. Disponível em: <https://docplayer.com.br/23224899-Adjuntos-utilizados-para-producao-de-cerveja-caracteristicas-e-aplicacoes.html>>. Acesso em: 19 jul. 2020.

DENBY, C. M.; LI, R. A.; VU, V. T.; COSTELLO, Z.; LIN, W.; CHAN, L. J. G.; WILLIAMS, J.; DONALDSON, B.; BAMFORTH, C. W.; PETZOLD, C. J.; SCHELLER, H. V.; MARTIN, H. G.; KEASLING, J. D. Industrial brewing yeast engineered for the production of primary flavor determinants in hopped beer. **Nat Commun**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://orbit.dtu.dk/en/publications/industrial-brewing-yeast-engineered-for-the-production-of-primary>>. Acesso em: 06 dez. 2020.

DOOLEY, L.; LEE, Y.; MEULLENET, J. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food quality and preference**, v. 21, n. 4, p. 394-401, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329309001554>>. Acesso em: 18 jun. 2022.

DORDEVIĆ, S.; POPOVIĆ, D.; DESPOTOVIĆ, S.; VELJOVIĆ, M. ATANACKOVIĆ, M.; CVEJIĆ, J.; NEDOVIĆ, V.; LESKOŠEK-ČUKALOVIĆ, I. Extracts of medicinal plants as functional beer additives. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ**, v. 22, n. 3, p. 301-308, 2016. Disponível em: <https://doaj.org/article/0ea71f339d8e474eba47b421432cf6ea>>. Acesso em: 23 dez. 2021.

DUCRUET, J.; RÉBÉNAQUE, P.; DISERENS, S. KOSIŃSKA-CAGNAZZO, G.; HÉRITIER, I.; ANDLAUER, W. Amber ale beer enriched with goji berries – The effect on bioactive compound content and sensorial properties. **Food Chemistry**, v. 226, p. 109–118, 2017. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461730047X?via%3Dihub>>. Acesso em: 21 dez. 2021.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ, S. JR. Química do lúpulo. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019. Disponível em:

<http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=6968>. Acesso em: 18 jul. 2020.

DZIALO, M. C.; PARK, R.; STEENSELS, J.; LIEVENS, B.; VERSTREPEN, K. J. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast. **FEMS microbiology reviews**, v. 41, n. Supp_1, p. S95-S128, 2017. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1093/femsre/fux031>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

FERREIRA, R. H.; VASCONCELOS, M. C. R. L.; JUDICE, V. M. M.; NEVES, J. T. R. Inovação na fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte. **Perspectivas em Ciência da Informação**, n. 16, p. 171-191, 2011. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/pci/a/zQnXvzF4hJ335zJXQQjNBwC/?format=pdf&lang=pt>>.

Acesso em: 15 jul. 2020.

FERREIRA, R. H.; VASCONCELOS, M. C. R. L.; JUDICE, V. M. M.; NEVES, J. T. R. Inovação na fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte. **Perspectivas em Ciência da Informação**, n. 16, p. 171-191, 2011. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/pci/a/zQnXvzF4hJ335zJXQQjNBwC/?format=pdf&lang=pt>>.

Acesso em: 15 jul. 2020.

FIDELIS, V. R. L.; PEREIRA, E. M.; SILVA, W.; GOMES, J.; SILVA, L. Produção de sorvetes e iogurtes a partir dos frutos figo da Índia e mandacaru. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 10, n. 4, p. 29, 2015. Disponível em:

<<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7319170>>. Acesso em: 12 br. 2022.

FLAVIIS, R.; SANTARELLI, V.; MUTARUTWA, D.; GIULIANI, M.; SACCHETTI, G. Volatiles profile of 'Blanche' wheat craft beer as affected by wheat origin: A chemometric study. **Food Chemistry**, v. 385, p. 132696, 2022. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132696>>. Acesso em: 25 jun. 2022.

GASIŃSKI, A.; KAWA-RYGIELSKA, J.; SZUMNY, A.; CZUBASZEK, A.; GASIOR, J.; PIETRZAK, W. Volatile Compounds Content, Physicochemical Parameters, and Antioxidant Activity of Beers with Addition of Mango Fruit (*Mangifera Indica*). **Molecules**, v. 25, n. 13, p. 3033, 2 jul. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/13/3033>>.

Acesso em: 28 dez. 2020.

HE, YANG.; DONG, J.; YIN, H.; ZHAO, Y.; CHEN, R.; WAN, X.; CHEN, P.; HOU, X.; LIU, J.; CHEN, L. Wort composition and its impact on the flavour-active higher alcohol and ester formation of beer—a review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 3, p. 157-163, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/jib.145>>. Acesso em: 25 jun. 2022.

HUGHES, G. **Cerveja feita em casa**. 1. ed. São Paulo: Publifolha, 2014.

JUNIOR, A. A. D.; VIEIRA, A. G.; FERREIRA, T. P. Processo de produção de cerveja. **Revista Processos Químicos**, v. 3, n. 6, p. 61-71, 2009. Disponível em:

<http://ojs.rpqsena.org.br/index.php/rpq_n1/article/view/35>. Acesso: 01 ago. 2020.

JUNIOR, A. A. D.; VIEIRA, A. G.; FERREIRA, T. P. Processo de produção de cerveja. **Revista Processos Químicos**, v. 3, n. 6, p. 61-71, 2009. Disponível em: <http://ojs.rpqsena.org.br/index.php/rpq_n1/article/view/35>. Acesso: 01 ago. 2020.

KAWA-RYGIELSKA, J.; ADAMENKO, K.; KUCHARSKA, A. Z.; PROROK, P.; PIÓRECKI, N. Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. **Food chemistry**, v. 281, p. 147-153, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30658741/>>. Acesso em: 15 jul. 2020.

KEMP, T.; HOLLOWOOD T.; HORT, J. **Sensory Evaluation: A practical handbook**. 5 ed. 2009.

KUNZE, W. **Tecnología para cervecedores y malteros**. 1. ed. Berlim: VLB, 2006.
LARROQUE, M. N.; CARRAU, F.; FARIÑA, L.; BOIDO, E.; DELLACASSA, E.; MEDINA, K.; Effect of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* native yeasts on beer aroma compounds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 337, p. 108953, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33161347/>>. Acesso em: 20 dez. 2021.

LIMA, R. K. B. **Caracterização e potencial antioxidante do fruto da palma (*Tacinaga inanmoena*) e do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru*)**. 2016. (Mestrado em Fitotecnia) – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal do Semi-árido, Mossoró, 2016. Disponível em: <<https://ppgfito.ufersa.edu.br/wp-content/uploads/sites/45/2015/02/Disserta%C3%A7%C3%A3o-2016-RYDLEY-KLAPEYRON-BEZERRA-LIMA.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2020.

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

MARTÍNEZ, A.; VEGARA, S.; MARTÍ, N.; VALERO, M.; SAURA, D. Physicochemical characterization of special persimmon fruit beers using bohemian pilsner malt as a base. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 3, p. 319-327, 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jib.434>>. Acesso em: 20 dez. 2020.

MARTINS, A. C. S.; BARROS, P. S.; SAORES, J. K. B.; VIERA, V. B.; OLIVEIRA, M. E. G. Elaboração, processamento e análises microbiológicas de geleia tipo extra dos frutos de mandacaru (*Cereus jacamaru*) e maracujazeiro amarelo (*passiflora edulis sims.*). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e508974450-e508974450, 2020. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/4450/3704>>. Acesso em: 12 abr. 2022.

MATOS, T. L. M.; FERREIRA, I. M.; ANDRADE, J. P. S.; SANTOS, L. N.; SILVA, A. M. O.; CARVALHO, M. G. Bala de gelatina com mandacaru (*Cereus jamacaru* PC) saborizada com maracujá e umbu: formulação e avaliação. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 11, n. 2, p. 87-103, 2020. Disponível em: <<https://revistas.utfpr.edu.br/rebrapa/article/view/13095/pdf>>. Acesso em: 18 fev. 2022.

MELO, R. S.; SILVA, S.; SOUSA, A. S. B.; LIMA, R. P.; DANTAS, A. L.; DANTAS, R. L.; FIGUEIREDO, V. M. A. Maturação e qualidade de frutos de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) de diferentes bioclimas do estado da Paraíba. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 38, n. 3, p. 160-168, 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufpb.br/index.php/at/article/view/33818>>. Acesso em: 10 jun. 2020.

MOREIRA, I. S.; SILVA, L. M. M.; CASTRO, D. S.; LIMA, J. P.; SOUSA, F. C.; ALMEIDA, F. A. C.; SILVA, W. O.; GOMES, J. P.; SILVA, C. M. D. P. S. Fruit of Mandacaru: Kinetics of Drying and Physical-Chemical Characterization. **Journal of Agricultural Science**; v. 10, n. 11, p. 461-470, 2018. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/e642/949dbf512c6604ad6be09980dd4e3999ad36.pdf>>. Acesso em: 18 abr. 2022.

NACHEL, M.; ETTLINGER, S. **Cerveja para leigos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Alta Books, 2013.

NARDINI, M.; GARAGUSO, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. **Food chemistry**, v. 305, p. 125437, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31499290/>>. Acesso em: 15 jul. 2020.

NEDOVIĆ, V.; GIBSON, B.; MANTZOURIDOU, T. F.; BUGARSKI, B.; DJORDJEVIĆ, V.; KALUŠEVIĆ, A.; PARASKEVOPOULOU, A.; SANDELL, M.; ŠMOGROVIČOVÁ, D.; YILMAZTEKIN, M. Aroma formation by immobilized yeast cells in fermentation processes. **Yeast**, v. 32, n. 1, p. 173-216, 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/yea.3042>>. Acesso em: 24 dez. 2021.

NETO, D. M. C.; FERREIRA, L. L. P.; SAD, C. M. S.; CASTRO, E. V. R.; BORGES, W. S.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA, .Conceitos Químicos Envolvidos na Produção da Cerveja: Uma Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n.12, p.1-28, 2020. Disponível em: <<http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/rvq-100220-a1.pdf>>. Acesso em: 20 dez. 2021.

NETO, J. P. S. SILVA, V. D. N.; SILVA, P. A.; SANTOS, Y. M. P.; MONTEIRO, P. H. S.; SILVA, L. A. S. G. Características físico-químicas do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.) cultivado no sertão alagoano. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 4, n. 1, p. 7141, 2019. Disponível em: <https://www.seer.ufal.br/index.php/era/article/view/7741/5852>. Acesso em: 06 jun. 2020.

NG, M.; CHAYA, C.; HORT, J. The influence of sensory and packaging cues on both liking and emotional, abstract and functional conceptualisations. **Food Quality and Preference**, v. 29, n. 2, p. 146-156, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.03.006>>. Acesso em: 13 jun. 2022.

NIKULIN, J.; VIDGREN, V.; KROGERUS, K.; MAGALHÃES, F.; VALKEEMÄKI, S.; KANGAS-HEISKA, T.; GIBSON, B. Brewing potential of the wild yeast species *Saccharomyces paradoxus*. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 11, p. 2283-2297, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-020-03572-2>. Acesso em: 22 dez. 2021.

OLANIRAN, A. O.; HIRALAL, L.; MOKOENA, M. P.; PILLAY, B. Flavour-active volatile compounds in beer: production, regulation and control. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 1, p. 13-23, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jib.389>. Acesso em: 25 jun. 2022.

ORTIZ, T. A.; URBANO, M. R.; TAKAHASHI, L. S. A. Effects of water deficit and pH on seed germination and seedling development in *Cereus jamacaru*. **Semina: Ciências**

Agrárias, v. 40, n. 4, p. 1379-1392, 2019. Disponível em:

<<https://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/29443>>. Acesso em: 18 abr. 2022.

PADILHA, C. V. S.; MISKINIS, G. A.; SOUZA, M. E. O. S.; PEREIRA, G. E.; OLIVEIRA, D., BORDIGNON-LUIZ, M. T.; LIMA, M. DOS SANTOS (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**, v. 228, p. 106-115, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26315997/>>. Acesso em: 20 nov. 2021.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 19-24, 2013. Disponível em: <<https://www-sciencedirect.ez15.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0889157512001652>> Acesso: 18 fev. 2022.

PIRES, E. J.; TEIXEIRA, J. A.; BRÁNYIK, T.; VICENTE, A. A. Yeast: the soul of beer's aroma - a review of flavour-active esters and higher alcohols produced by the brewing yeast. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 5, p. 1937-1949, 2014. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-013-5470-0>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

RAMOS, G. C. B.; PANDOLFI, M. A. C. A. Evolução do mercado de cervejas artesanais no brasil. **Revista Interface Tecnológica**, v. 16, n. 1, p. 480-488, 2019. Disponível em: <<https://revista.fatectq.edu.br/index.php/interfacetecnologica/article/view/591>>. Acesso em: 9 out. 2020.

RAMOS, J. A.; JERÔNIMO, H. M. A.; NÓBREGA, J. P. M.; SOARES, J. K. B.; OLIVEIRA, M. E. G.; VIERA, V. B.; MARTINS, A. C. S. Avaliação sensorial de iogurte caprino prebiótico adicionado de geleia da polpa de mandacaru e maracujá. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 6, p. e135963570-e135963570, 2020. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3570/3860>>. Acesso em: 18 abr. 2022.

REICHEL, S.; CARVALHO, D.; SANTOS, J. R.; BEDNAR, P.; RODRIGUES, J. A.; GUIDO, L. F. Profiling the volatile carbonyl compounds of barley and malt samples using a low-pressure assisted extraction system. **Food Control**, v. 121, p. 107568, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107568>>. Acesso em: 22 fev. 2022.

RIBEIRO-FILHO, N.; LINFORTH, R.; POWELL, C. D.; FISK, I. D. Influence of essential inorganic elements on flavour formation during yeast fermentation. **Food Chemistry**, v. 361, p. 130025, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130025>>. Acesso: 18 abr. 2022.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da cerveja. **Revista Química Nova**, v. 37, n.2 p. 98-105, 2015. Disponível: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc37_2/05-QS-155-12.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2020.

RUFINO, M. S. M. FERNANDES, M.; ALVES, F. A. N.; BRITO, E. S. Free radical-

scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 693-695, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881460801193X>>. Acesso em: 10 jun. 2020.

SANTOS, N. C.; ALMEIDA, R. L. J.; SILVA, L. R. I.; PEREIRA, T. S.; SILVA, V. M. A.; EDUARDO, R. S.; MOREIRA, F. I. N.; SILVA, G. M.; NUNES, J. S.; RIBEIRO, V. H. A. Pasteurization of pulp and peel of mandacaru fruit (*Cereus jamacaru*). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 1-12, 2020. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/341607883_Pasteurizacao_da_polpa_e_da_casca_do_fruto_do_mandacaru_Cereus_jamacaru>. Acesso em: 16 jun. 2020.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. Cerveja e sociedade. **Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, v. 4, n. 2, p. 85-91, 2016. Disponível em: http://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/revistacontextos/wp-content/uploads/2016/03/73_CA_artigo_revisado.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2020.

SILVA, L. F. C. R.; VALLE, L. S.; NASCIMENTO, A. R. C.; MEDEIROS, M. F. T. *Cereus jamacaru* DC.(Cactaceae): From 17 th century naturalists to modern day scientific and technological prospecting. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, n. 2, p. 191-197, 2019. Disponível em: <<https://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/245429>>. Acesso em: 15 out. 2020.

SILVA, S. N.; SILVA, P. B.; SILVA, R. M.; SILVA, P. F. R.; BARROSO, A. J.; ALMEIDA, F. A.C.; GOMES, J. P. Composição físico-química e colorimétrica da polpa de frutos verdes e maduros de *Cereus jamacaru*. **Magistra**, v. 30, p. 11-17, 2019. Disponível em: <<https://magistraonline.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/621>>. Acesso em: 16 jul. 2020.

SILVA, R. N. P.; DIAS, J. F.; KOBLITZ, M. G. B. Cervejas: relação entre estilos; compostos fenólicos e capacidade antioxidante. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e42210313471-e42210313471, 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/13471/12143>>. Acesso em: 18 mai. 2022.

SINDICERV, 2019. **Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja: O setor em números**. Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>. Acesso em: 05 dez. 2020. SORBO, A. C. A. C.; BROETTO, F. Caracterização dos antioxidantes em cervejas tipo pilsen suplementadas com polpa de maracujá. **Energia na Agricultura**, v. 34, n. 3, p. 441-446, 2019. Disponível em: <<https://revistas.fca.unesp.br/index.php/energia/article/view/3092>>. Acesso: 10 ago. 2020.

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: 21 dez. 2021.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009. Disponível em: <<https://revistadoilct.com.br/ilct/article/view/70/76>>. Acesso em: 13 jun. 2020.

TOKPOHOZIN, S. E.; FISCHER, S.; BECKER, T. Selection of a new *Saccharomyces* yeast to enhance relevant sorghum beer aroma components, higher alcohols and esters. **Food microbiology**, v. 83, p. 181-186, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31202411/>>. Acesso em: 23 dez. 2021.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e tecnologia**. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2016.

VIANA, A. C.; PIMENTEL, T. C.; VALE, R. B. V.; CLEMENTINO, L. S.; FERREIRA, E. T. J.; MAGNANI, M.; LIMA, M. S. American pale Ale craft beer: Influence of brewer's yeast strains on the chemical composition and antioxidant capacity. **LWT**, v. 152, p. 112317, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996918305623>>. Acesso: 22 dez. 2021.

VIEJO, C. G.; FUENTES, S.; TORRICO, D. D.; GODBOLE, A.; DUNSHEA, F. R. Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking. **Food chemistry**, v. 293, p. 479-485, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.114>. Acesso em: 25 jun. 2022.

VILLACRECES, S.; BLANCO, C. A.; CABALLERO, I. Developments and characteristics of craft beer production processes. **Food bioscience**, v. 45, p. 101495, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101495>>. Acesso em: 18 jun. 2022.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation**. 1. ed. Boulder: Brewers, 2010.

YAN, D.; WONG, Y.; SHELLIE, R. A.; PHILIP J. MARRIOTT, P. J.; WHITTOCKA, S. P.; KOUTOULIS, A. Assessment of the phytochemical profiles of novel hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars: A potential route to beer crafting. **Food chemistry**, v. 275, p. 15-23, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30724181/>>. Acesso em: 22 de. 2021.

ZAPATA, P. J.; MARTÍNEZ-ESPLÁ, A.; GIRONÉS-VILAPLANA, A.; SANTOS-LAXA, D.; NOGUERA-ARTIAGA, L.; CARBONELL-BARRACHINA, A. Phenolic, volatile, and sensory profiles of beer enriched by macerating quince fruits. **LWT**, v. 103, p. 139-146, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643821009221?dgcid=rss_sd_all>. Acesso em: 10 ago. 2020.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados e discussão obtidos durante o desenvolvimento da pesquisa estão apresentados em forma de artigo científico original, submetido e formatado nas normas do periódico Food Chemistry (Qualis A1 e Impact Factor 9.2) e intitulado: Mandacaru fruit pulp (*Cereus Jamacaru* DC.) as an adjunct and its influence in the beer properties.

Mandacaru fruit pulp (*Cereus Jamacaru* DC.) as an adjunct and its influence in the beer properties

José Renato Da-Silva^a, Lys Gabriela Alves Correia-Lima^a, Givanildo Luis Fernandes^a,
Normando Ribeiro-Filho^b, Marta Suely Madruga^a, Marcos dos Santos Lima^c, Marcelo
Barbosa Muniz^a

^a PPGCTA/Technology Center, Campus I, Federal University of Paraiba, João Pessoa, Paraiba, Brazil

^b PPGA/Centre for Agrarian Science, Campus II, Federal University of Paraiba, Areia, Paraiba, Brazil

^c Department of Food Technology, Federal Institute of Sertão Pernambucano, Petrolina, Pernambuco, Brazil

Abstract

Beer is a complex product due to its raw materials (malt, hops, yeast, and water) that can contribute to a wide range of formulations because of its varieties, quality, and processing; however, beer production can also use other matters as adjuncts that increase the wort complexity. This study investigates the influence of MFP as an adjunct on volatile and phenolic compounds, and antioxidant properties of beer. The worts were produced using 4 treatments including a control. Fermentations were conducted using yeast *Lachancea spp.* for 10 days at 18 °C, matured at 3 °C for 15 days, and bottled (7 g of sucrose per bottle) at 20 °C for 15 days. All compounds were evaluated by HPLC (ethanol, glycerol, organic acids, and phenolic compounds), and GC–MS (volatile). Furthermore, antioxidant activity was also evaluated. Worts' supplementation influenced the volatile and phenolic profile and increased the antioxidant activity of wort and beer.

Keywords: Brewing, Mandacaru fruit (*Cereus jamacaru* DC.), Antioxidant, Phenolic, volatile

1. Introduction

Beer production uses four classic ingredients; barley/malt, water, hops and yeast; and involves five brewing stages including malting, wort production, fermentation, maturation and packaging (Stewart 2016, Briggs *et al.* 2004, Boulton and Quain 2001). Wort is the complex matrix or medium where yeast growth and beer fermentation occurs. Although, beer is generally produced from barley malt, other raw materials called adjuncts have been also used in association with or instead of barley malt (Cadenas *et al.* 2021). Adjuncts utilisation can improve the bioactive compounds content and change the sensorial characteristics to beer (Leonard *et al.* 2021, Cadenas *et al.* 2021). The utilisation of adjuncts can take advantage of raw materials from different world regions because can reduce production cost.

Beer wort composition influences the nutritional content, aroma, and final flavour of beers due to the complex nature of its constituents including proteins, carbohydrates, minerals, lipids and vitamins (Ribeiro-Filho *et al.* 2021, Ferreira; Guido, 2018). Wort is a complex environment, which is fundamental for yeast growth and metabolism, and as a consequence, the formation of flavour compounds that affect the quality of the beverage. During fermentation, wort changes its nutritional content, where carbohydrates are consumed, and ethanol is generated increasing yeast stress due to ethanol toxicity (Ribeiro-Filho *et al.* 2021). However, using adjuncts with a high quantity of phenolic compounds may support yeast metabolic activities and may guarantees the formation of components that impact the flavour and aroma of the beer and its final quality (Câmara & Sant'Ana, 2021; 2018; Sterczynska *et al.*, 2021). Moreover, a necessity of brewing industry to use different raw material for beer production by using local raw materials in substitution of barley/malt can reduce costs because barley is an international commodity regulated by dollar exchange.

In this context, the Brazilian Caatinga biome includes several plants, which can be use as raw materials with a great industrial potential such as the mandacaru fruit. Madacaru (*Cereus jamacaru* DC.) is a columnar and succulent cactus, resistant to drought, being one of the most fruitful species in the biome (Santos *et al.*, 2021, Mota *et al.*, 2019). Mandacaru fruit pulp (MFP) contains carbohydrate, amino acids, phenolic compounds, an antioxidant potential, and minerals such as calcium and potassium (De Araújo *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2021). Additionally, the phenolic content and antioxidant activity are important compounds for the oxidative stability, and promotes health benefits (Nardini; Garaguso, 2020; Rahman *et al.*, 2020, Ducruet *et al.* 2017; Gasinski *et al.*, 2020). Wort supplementation with MFP may provide a new product with a wide complexity of aroma, flavour, and bioactive potential; and

also, an alternative for people from the Caatinga region to explore MFP as a new source of income give them a more alternative to developing its living regions (Santos *et al.*, 2021).

Although most of the phenolic compounds present in beers come from malt and hops; however, wort supplemented with MFP may increase the phenolic content, antioxidant potential and nutritional quality of beer, and is associated with beneficial health effects due to the high concentration of these compounds in MFP. Recent studies report the positive impact of wort supplementation with fruit on the phenolic and antioxidant content of beer, including mango (Gasinski *et al.*, 2020), cherry (Kawa-Rygielska *et al.*, 2020), quince fruit (Zapata *et al.*, 2019), goji berries (Ducruet *et al.*, 2017) and raspberry, peach, apricot, grape, plum, orange and apple (Nardini; Garaguso, 2020). From the best of our knowledge studies involving utilisation of MFP as a brewing adjunct, its brewing potential, and its possibilities of reducing production costs and, mainly, its chemical and biochemical mechanisms, which influences on ethanol, glycerol, organic acids, phenolic compounds, and aromas formation has been not investigated.

Therefore, this study investigates the influence of MFP as an adjunct on volatile and phenolic compounds, and antioxidant properties of beer by using different concentrations of this adjunct.

2. Material and methods

2.1 Brewing Materials

The raw materials used include Pilsner malt (Agraria®), wheat malt (White Swaen® Classic), commercial hops (Citra® - Barth-Hass), commercial freeze-dried yeast *Lachancea spp.* (Philly Sour, Lallemend, USA), and mandacaru fruits as an adjunct. The last one was obtained from a rural area of Parari, Paraíba state, Brazil. Additionally, the fruits were selected by considering its colour and the absence of defects.

2.2 Brewing wort

All grains were milled with a Roppi-250 roller mill (Robix, Veszprém, Hungary) at a gap setting of 0.85 mm. Brewing was performed in a 30 L Grainfather system (The Grainfather, Auckland, New Zealand). Mash-in temperature was 53 °C and held for 10 min, followed with a 50 min stand at 65 °C, then a 10 min stand at 75 °C with final mash-off at 78

°C for 5 min. Temperature increases between stands were ramped at a rate of between 1.4–1.5 °C/min. Sparge water was passed through the grain bed and the resultant wort was boiled with 0.1 g of hop pellets/L for 60 min. Wort was cooled to 25 °C, and its sugar composition is presented in the Table 1.

Table 1. Beer wort carbohydrates (including Maltotetraose + Maltotriose+Sucrose, Maltose, Glucose and Fructose) concentration (g/L), each value is the mean of three replicates and errors shown by standard deviation

Compounds	Concentration (g/L)	Percentage (%)
Maltotetraose + maltotriose + sacarose	17.2 ± 1.5	25.5
Maltose	49.8 ± 0.7	74.0
Glucose	0.2 ± 0.0	0.3
Fructose	0.1 ± 0,0	0.2
Total	67.3 ± 0.7	100

2.3 Fermentation and Wort Adjunct

Four beer formulations by adding different concentrations of adjunct (MFP) in the wort (sub-topic 2.2) were prepared with adjunct concentrations: 0 (zero) g/L (Beer control, P), 100 g/L (Beer A), 200 g/L (Beer B), and 300 g/L (Beer C). Fermentations were conducted in a FastFerment 30 L conical fermenter using with yeast *Lachancea* spp (0.5 g/L (1.5×10^7 cell/mL) for 10 days at 18 °C, followed by maturation at 3 °C for 15 days. Beers were bottled in bottles of 600 mL glass brown bottles, bottle conditioned (7 g of sucrose per liter) at 20 °C for 15 days and subsequently stored at 3 °C until the execution of the analyses.

2.4 Analysis of yeast cell viability

Viability was determined using methylene blue assessment. 100 mL of methylene blue (0.01 g/L stock solution) was dissolved in sodium citrate solution (2% w/v) to a final concentration of 0.01% (Pierce, 1970). Yeast suspension (0.5 mL) was mixed with methylene blue solution (0.5 mL) and incubated for 5 min at room temperature. Viability was calculated at the end fermentation, considering the distinction between live cells and dead, it was expressed as a percentage.

2.5. HPLC protocols

2.5.1. Compositional analysis of ethanol and glycerol by high performance chromatography

Ethanol and glycerol concentrations were quantified by high performance liquid chromatography (HPLC) with refractive detection (RID) using a method developed by Ball and Lloyd (2011). For all analyses, the samples were submitted to removal of carbon dioxide by means of an ultrasonic bath, then centrifuged at $4000 \times g$ for 15 min) and filtered through $0.45\mu\text{m}$ Millex-HA filters (Millipore Co., Bedford, MA). The injection volume was $10\mu\text{L}$ and the solvent flow was 0.8 mL/min . The Agilent Hi-Plex H ion exchange column ($300 \times 7.7\text{ mm}$) featured 8 mm particles, protected by a PL Hi-Plex H ($5 \times 3\text{ mm}$) pre-column (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The mobile phase was 0.004 mol/L of H_2SO_4 , the separation temperature was 60°C and the analysis was completed in 20 min. The compounds were detected by comparison with external standards, with validated methodology regarding linearity, recovery and detection limits (Viana *et al.*, 2021).

2.5.2. Compositional analysis of Carbohydrates and organic acids by high performance chromatography

Carbohydrates and organic acids were quantified by HPLC/DAD/RID using a method developed by Coelho *et al.* (2018). Pre-centrifuged/filtered samples (2 mL) were pipetted into a 2 mL vials. The HPLC Agilent chromatograph (model 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, USA) with an array diode detector (DAD) and a refractive index detector (RID). Chromatographic separation was performed on an Agilent Hi-Plex H ion exchange column at 210 nm , length 300 mm , internal diameter 7.7 mm , particle size $8\mu\text{m}$. The mobile phase was 4 mmol/L H_2SO_4 with a flow rate of 0.5 mL/min , the injection volume was $10\mu\text{L}$ and data acquisition was completed over 28 min. The determination of peak area, and concentrations were determined by comparison to authentic standards. All quantified compounds showed calibration curves with $R^2 > 0.997$. The detection and quantification limits for all compounds evaluated were $\text{LOD} < 0.044\text{ g/L}$ and $\text{LOQ} < 0.151\text{ g/L}$, respectively. All chemicals used were analytical grade ($>95\%$ purity, Sigma-Aldrich, UK).

2.5.3. Compositional analysis of phenolic compounds by high performance chromatography

Phenolic compounds were determined by RP-HPLC/DAD using a method developed by Padilha *et al.* (2017). Pre-centrifuged/filtered samples (2 mL) were pipetted into a 2 mL vials. The HPLC Agilent chromatograph (model 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, USA) with an array diode detector (DAD). Chromatographic separation was performed on a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 x 4.6 mm, 3.5 μ m) and a Zorbax C18 (12.6 x 4.6mm, 5 μ m). The mobile phase was 4mmol/L H₂SO₄ with a flow rate of 0.5 mL/min, the injection volume was 10 μ L and data acquisition was completed over 28 min. The determination of peak area, and concentrations were determined by comparison to authentic standards. The quantified phenolic compounds showed calibration curves with $R^2 > 0.998$. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) for all compounds evaluated were LOD <0.12 mg/L and LOQ < 0.28 mg/L. Threshold tests evaluated the spectral purity of the peaks (height > 10 mAU) with a purity factor > 990 to ensure that there is no coelution in the quantified peaks. All chemicals used were analytical grade (>95% purity, Sigma-Aldrich, UK).

2.6 Compositional analysis of non-polar volatile organic compounds by gas chromatography mass spectrometry (GC–MS)

Beer sample (5 mL) was stored in amber glass vials (20 mL, 22.5 mm x 75.5 mm, Sigma Aldrich) and closed with crimp seals (Sigma-Aldrich) for GC–MS analysis. Each sample type had three replicates and they were analysed in a randomised order by GC–MS. Volatile compounds extraction was performed by HS-SPMPE-CG-MS with a Supelco SPME device (Bellafonte, PA, USA) and the analysis was performed in triplicate. Samples were incubated at 40 °C for 10 min with shaking. A 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS SPME Fibre (Supelco, Sigma Aldrich) was used to extract volatile aroma compounds from the sample headspace (extraction for 50 min then desorption for 10 min).

Separation was carried out on a VF-5MS Column (30m x 0,25mm x 0,25 μ m). Column temperature was held initially at 40 °C for 5 min, increased by 5 °C/min to 240 °C and held for 5 min. Data acquisition was completed over 61 min. Full scan mode was used to detect the volatile compounds (mass range from 35 to 350 AMU). Volatiles were identified by comparison of each mass spectrum with either the spectra from authentic compounds or with spectra in reference libraries (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, version 2.0, Faircom

Corporation, U.S.) through their retention rates with those of known compounds, through the injection of homologous n-alkanes (C8-C30). The results were expressed in relative area abundance of each compound as a percentage (%) of the total peak area. All chemicals used were analytical grade (>95% purity, Sigma-Aldrich, UK).

2.7 Antioxidant capacity analysis

The antioxidant capacity was evaluated by the iron reduction method (Ferric Reducing Antioxidant Power - FRAP), and by scavenging DPPH[•] (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radicals using a method developed by Kawa-Rygielska *et al.* (2019); And ABTS^{•+} (2,2-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) using a method developed by Rufino *et al.* (2009). In both methods, Trolox was used to construct the calibration curves and the results were expressed in mmol Trolox equivalent of antioxidant capacity per liter of beer (mmol TEAC/L).

An ABTS^{•+} reagent was generated by preparing an aqueous solution of 7 mM of ABTS plus 2.45 mM of potassium persulfate (1:1 v/v), which was incubated at 25 °C for 16 h, in the absence of light. A 30 µL of beer samples was added to 3000 µL of the ABTS^{•+} radical solution for 6 min, in the absence of light. Then, absorbance was measured at 734 nm using a spectrophotometer (DU-8200, Drawell, China). The DPPH[•] radical was prepared with ethanol and the DPPH reagent. A 100 µL of beer sample was added to 180 µL of the solution, incubated in the dark for 30 min; then, absorbance was measured at 515 nm using a spectrophotometer (DU-8200, Drawell, China).

A FRAP reagent was obtained by preparing an aqueous solution of a TPTZ acetate buffer solution (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) and an aqueous solution of ferric chloride (pH 3.6). A 90 µL of beer sample was added to 270 µL of distilled water plus 2700 µL of the FRAP reagent. The solution was kept in a water bath at 37 °C for 30 min. Then, absorbance was measured at 593 nm using a spectrophotometer (DU-8200, Drawell, China).

2.8 Statistical analysis

Results were analysed by ANOVA with Tukey's post hoc test to identify significant differences ($p < 0.05$) using STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Standardization value (SV) was calculated using the equation, $SV = (T_x - T_0)$, which considers the comparison of compound concentration between formulations A, B, and C and control

(reference), (T_x = wort supplemented with MFP; T_0 = Reference/control), as recommend by Ribeiro-Filho *et al.* (2021).

Principal Component Analysis (PCA) was used to reduce the dimensionality of the complex multivariate data sets and to ease interpretability and aid in identifying trends/correlations among treatments and samples. PCA was conducted for ethanol, glycerol, acetic acid, antioxidant activity, phenolic compounds, volatile compounds. Due to the amount of compounds evaluated, the variables used in the PCA were determined by the Spearman correlation test, removing variables with correlation above 90% using Minitab 18.0 software. Then, PCA analysis was carried out using Minitab 18.0 software. Kaiser Criteria (eigenvalue > 1) and cumulative variance ($>60\%$) was used to describe/select data, which is summarised in the PCA bi-plot.

3. Results

A brewing wort was prepared using Pilsner malt (Agraria®), wheat malt (White Swaen® Classic), and commercial hops (Citra® - Barth-Hass). Then, four beer formulations by adding different concentrations of adjunct: Mandacaru Fruit Pulp (MFP) in the wort (sub-topic 2.2) were prepared with adjunct concentrations: 0 (zero) g of MFP/L (Beer control, P), 100 of MFP/L (Beer A), 200 g of MFP/L (Beer B), and 300 g of MFP/L (Beer C). Fermentations were conducted in a FastFerment 30 L conical fermenter using with yeast *Lachancea* spp (0,5 g/L (3×10^7 cell/mL)) for 10 days at 18 °C, then yeast viability was evaluated. Upon the completion of fermentation, beers were matured at 3 °C for 15 days. Beers were packaged into 600 mL glass brown bottles, bottle conditioned (7 g of sucrose per liter) at 20 °C for 15 days, then analysis antioxidant capacity, HPLC analysis (including ethanol, glycerol, organic acids, and phenolic compounds), and GC-MS analysis (volatile compounds) were conducted.

3.1 Effect of wort supplementation with MFP on yeast viability

Yeast viability is an indicator of fermentation quality and performance, the overall effect of wort supplementation with MFP on yeast viability is whatching in Fig. 1. Results showed that all fermentation presented a yeast viability above 85% and when compared the fermentation control to samples A, B, and C; they do not show any significant difference, which is a great sign because any change related to the final products evaluated will be a

response of compounds added by supplementation and/or by generation from yeast metabolism. Therefore, it excluded any influence caused by yeast death.

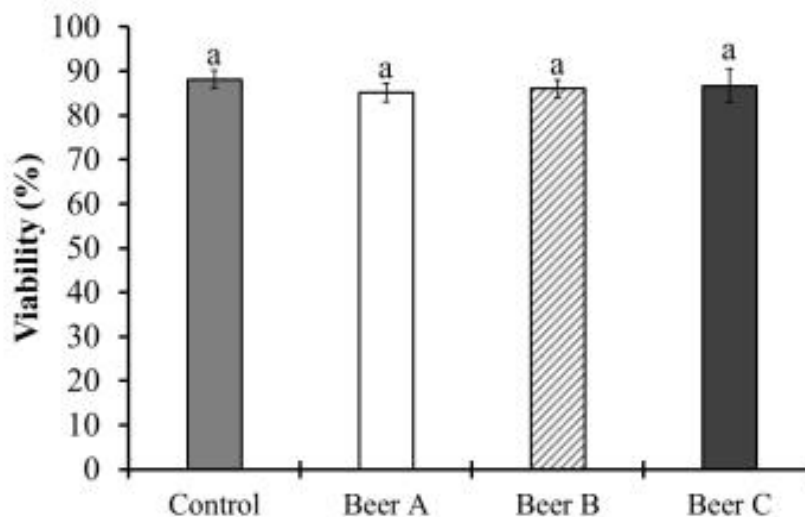


Fig. 1 - Final yeast viability (%) of control beer (■), Beer A (□), Beer B (▨) and Beer C (■). Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n=3$). Different lowercase letters indicate significant differences ($p<0.05$) for viability according to Tuckey's test

3.2 Effect of wort supplementation with MFP on ethanol, glycerol, acetic acid, and a sum of acids

Beers A, B, and C presented similar ethanol concentration (29.5 g/L) among them (Fig. 2A). However, these three samples showed a higher significant ethanol concentration ($p < 0.05$) than Beer P (control) (Fig. 2A). As expected, when ethanol concentration increases glycerol concentration tends to increase; therefore, beer A (4.6 g/L), beer B (4.5 g/L), and beer C (5.4 g/L) presented a higher significant glycerol concentration ($p < 0.05$) than beer P (2.6 g/L, control). Beer A and B presented a similar glycerol concentration, and beer C presented the highest glycerol concentration ($p < 0.05$) among all samples evaluated (Fig. 2A).

Organic acids formation was affected by supplementation with MFP (Fig. 2B). Beer B (7 g/L), and beer C (6.7 g/L) presented a higher significant sum of acids concentration ($p < 0.05$) than beer P (4.9 g/L, control) (Fig. 2B). In contrast, Beer A (4.5 g/L) presented a lower sum of acids concentration ($p < 0.05$) among all samples evaluated. When observed acetic acid formation, Beer P (control) (0.1 g/L) presented the highest acetic acid concentration ($p < 0.05$) among all samples evaluated (Fig. 2B). Therefore, the acids concentration increased in

beer B, and beer C are related to the formation of other acids such as citric acid, and malic acid, which were identified in beer B, and beer C. Beer B (0.96 g/L) presented the highest malic acid concentration ($p < 0.05$); and beer C (0.52 g/L) showed the highest citric acid concentration ($p < 0.05$) among all samples evaluated. Beer A (0.42 g/L), beer B (0.26 g/L), and beer C (0.35 g/L) presented a higher significant lactic acid concentration ($p < 0.05$) than beer P (control). Beer A presented the highest lactic acid concentration ($p < 0.05$) among all samples evaluated (Fig. 2B). When observed succinic acid concentrations, Beer A (0.26 g/L), beer B (0.20 g/L), and beer C (0.19 g/L) presented a higher significant concentration ($p < 0.05$) than beer P (0.16 g/L, control). Beer A presented the highest succinic acid concentration ($p < 0.05$) among all samples evaluated (Fig. 2B), and beers B and C presented a similar concentration of succinic acid (Fig. 2B).

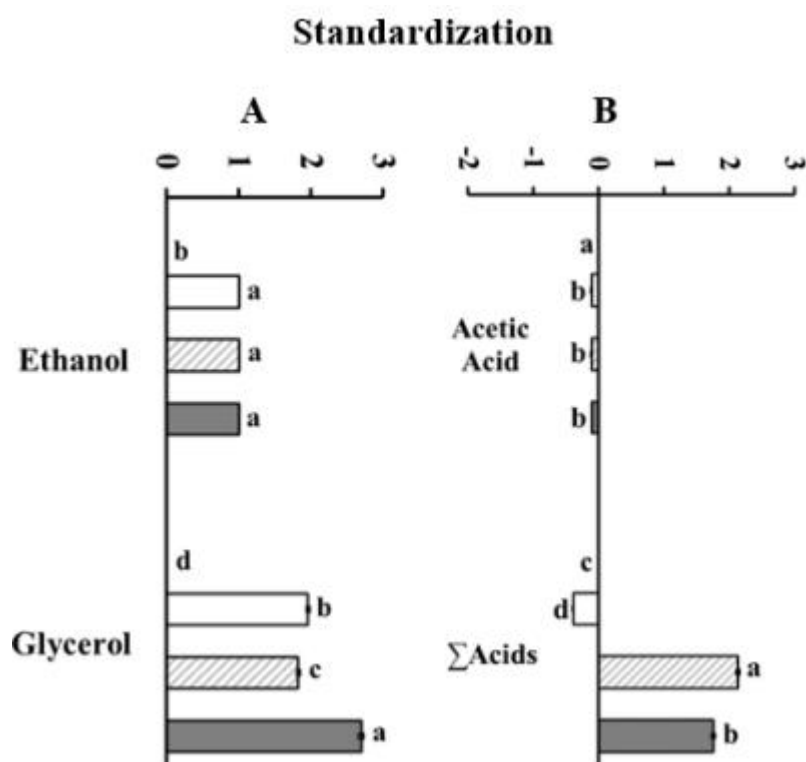


Fig. 2. Relative difference (to control beer) for Beer A (□), Beer B (▨) and Beer C (■), in the production of: ethanol and glycerol (A); acetic acid and other acids (B). Data is presented as standardised difference to Beer P (control), Tukey's post hoc test was used to identified significant differences and is presented as lower-case letters. Different letters indicate significant differences in viability within a species ($p < 0.05$).

3.3 Effect of wort supplementation with MFP on aroma compounds

Sixty-one volatile compounds were identified in the four beer formulations evaluated, which are divided in compound groups such as fatty acids (2 compounds), higher alcohols (10 compounds), esters (25 compounds), phenols (1 compounds), hydrocarbons (4 compounds), lactones (2 compounds), sulphurous (1 compounds), and terpenes (14 compounds) (Fig. 3). However, the most important aroma groups are higher alcohols, and esters.

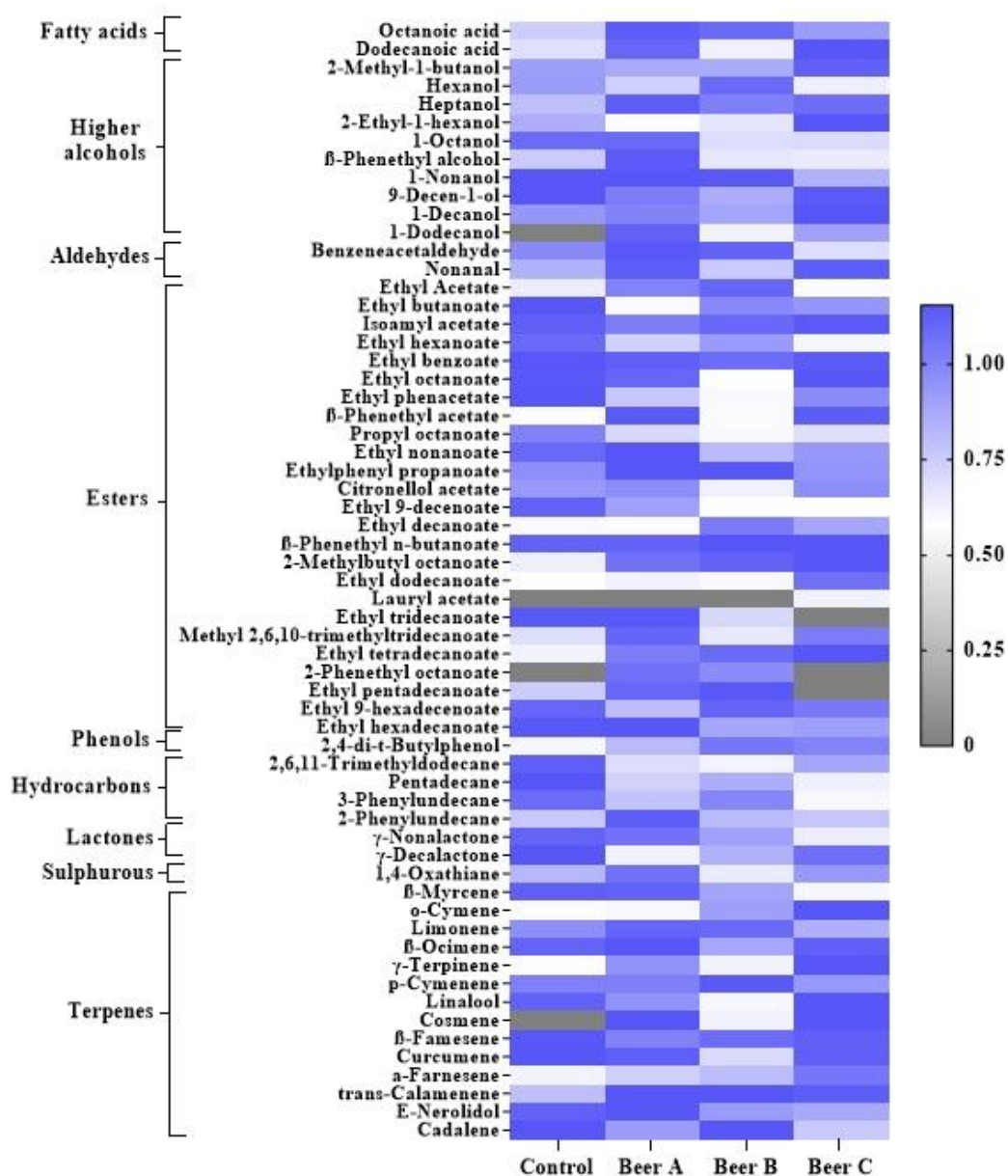


Fig. 3. The heat map of volatile compound contents (including fatty acids, higher alcohols, esters, phenols, hydrocarbons, lactones, sulphurous, and terpenes) measured from Beer P (control), Beer A, Beer B, and Beer C.

Higher alcohols are desirable and among all higher alcohols identified in this study, Phenethyl alcohol and 2-Methyl-1-butanol are the most important aroma compounds. Control beer showed the highest phenethyl alcohol presence ($p < 0.05$) among all samples evaluated (Fig. 3). However, Beer P, Beer B, and beer C presented a similar relative abundance (Fig. 3). Control Beer was observed a significant increase of 2-Methyl-1-butanol ($p < 0.05$). Esters is a very large compound group; however, in brewing the most important are acetate esters, and fatty acid ethyl esters. All samples evaluated presented a higher relative abundance of acetate esters (including ethyl acetate, isoamyl acetate, and phenethyl acetate), and fatty acids ethyl esters (including ethyl decanoate, and ethyl octanoate). However, worts supplemented (including Beer A, beer B, and Beer C) presented a significant higher relative abundance of ethyl acetate ($p < 0.05$), and phenethyl acetate ($p < 0.05$) when compared to Beer P (control). On the other hand, supplemented worts (including Beer A, beer B, and Beer C), and ethyl octanoate decreased (Fig. 3).

Moreover, fatty acids are undesirable compounds, it is well known. Using SPME as extraction technique was identified only two fatty acids, which were octanoic acid, and dodecanoic acid. A low presence of these compounds was identified in the beer P (control) but both tend to increase according to the supplementation with MFP. Beer A presented a higher relative abundance ($p < 0.05$) among all samples evaluated (Fig. 3). In Beer B a kind of competition was observed between the formation of these two fatty acids, therefore, octanoic acid formation increased and dodecanoic acid formation decreased (Fig. 3). In contrast, in the beer C, a similar competition was observed but, in the way, around, octanoic acid formation decreased and dodecanoic acid formation increased.

3.4 Effect of wort supplementation with MFP on the antioxidant activity and total phenolics

The antioxidant capacity of wort supplemented with MFP were evaluated using DPPH, ABTS, and FRAP methods. A significant effect of the amount of fruit on the antioxidant activity by the DPPH, ABTS and FRAP methods were observed ($p < 0.05$) (Fig. 4A). Wort supplemented with MFP increased the antioxidant activity of all samples evaluated (Fig. 4A). When applied DPPH and ABTS methods, the highest antioxidant activity was observed in beer B (7.24 mmol TEAC/L and 15.90 mmol TEAC/L, respectively) (Fig. 4A). Beer C presented the second higher antioxidant activity when measured by using DPPH (6.80 mmol TEAC/L) and ABTS (13.15 mmol TEAC/L) methods (Fig. 4). Both cited methods

presented significant differences among all samples evaluated. In contrast, when applied FRAP method, an increase from control to the highest MFP supplementation was observed from control to beer C on wort antioxidant activity (Fig. 4A). The results obtained indicated that no significant difference was observed between samples B (11.00 mmol TEAC/L) and C (11.27 mmol TEAC/L) when applied with the FRAP method (Fig. 4A). Furthermore, all antioxidant activities method applied show that wort supplemented with MFP significantly increased the antioxidant activity of beer. Also, total phenolics were influenced by wort supplemented with MFP. Beer control presented a good total phenolic concentration (21.52 mg/L), which was significantly ($p>0.05$) higher than the total phenolic concentration measured in the beer A (18.06 mg/L), and beer B (12.63 mg /L) (Fig. 4). Beer C contains the highest significant ($p>0.05$) total phenolic concentration (25.35 mg/L) (Fig. 4A). Therefore, wort supplemented with MFP influenced the antioxidant activity and total phenolics.

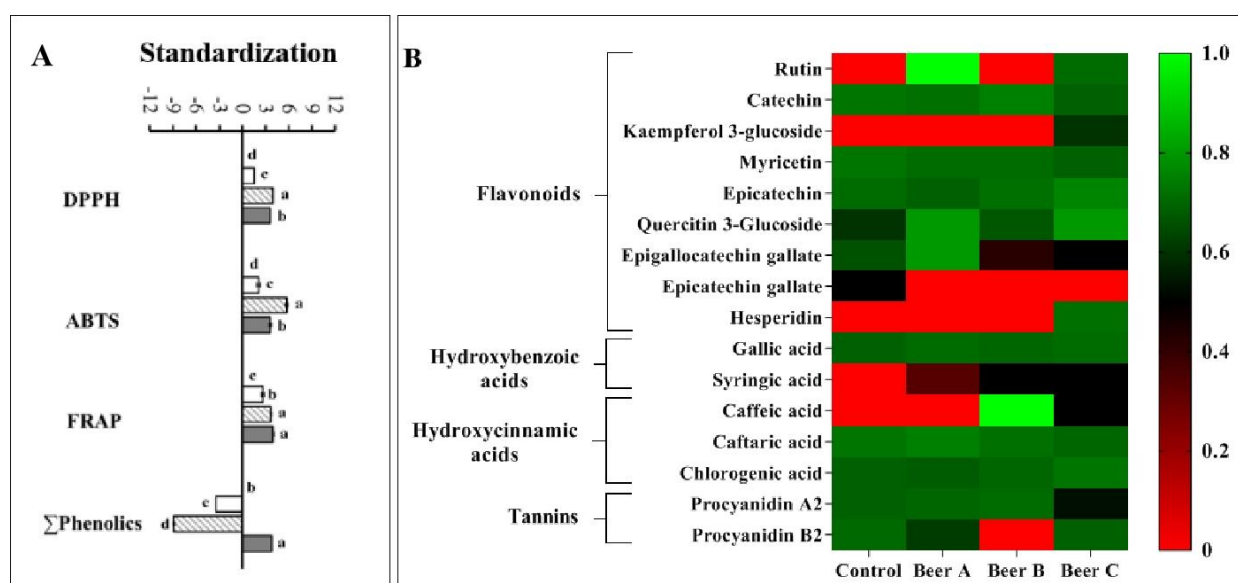


Fig. 4. A) Relative difference (to control beer) for Beer A (□), Beer B (▨) and Beer C (■) for the antioxidant activity evaluated by the DPPH, ABTS, FRAP methods, and the sum of phenolic compounds; **B)** A heat graph for explaining phenolic compounds contents including flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and tannins from its relative abundance (%). Data is presented as standardised difference to Beer P (control), Tukey's post hoc test was used to identified significant differences and is presented as lower-case letters. Different letters indicate significant differences in viability within a species ($p < 0.05$).

Sixteen phenolic compounds from the group of flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and tannins were identified (Fig. 4B). Among the classes of phenolic

compounds, tannins were the most abundant in all samples, except beer B (Fig. 4B). The flavonoid and hydroxybenzoic acid contents presented a higher significant concentration in the beer C ($p>0.05$), and the high significant concentration ($p>0.05$) of cinnamic acids was identified in the control beer (Fig. 4B). Among all phenolic compounds, gallic acid, myricetin, epicatechin, procyanidin A2, and procyanidin B2 presented the highest concentration in all samples. All other phenolic compounds showed a concentration lower than 1.0 mg/L. The most abundant phenolic compound identified in the beer control (7.8 mg/L), beer A (7.7 mg/L), and beer C (8.0 mg/L) was procyanidins B2. The highest significant ($p>0.05$) concentration of gallic acid (6.2 mg/L), and epicatechin (3.9 mg/L) were identified in beer C. Also, beer C was the only sample, which was identified compounds such as kaempferol 3- glucoside (0.18 mg/L) and hesperidin (1.48 mg/L) (Fig. 4B).

3.5 Principal component analysis (PCA) for phenolic compounds

All linear correlation among ethanol, glycerol, and acetic acid as fermentation markers; and its correlation with phenolic compounds was summarised using a PCA Bi-Plot (Fig. 5A). PC1 and PC2 accounted for 60% and 29.4% of the variance, respectively, which totals 89.4% of total variability. Therefore, PC1 and PC2 represent a cumulative variance > 60%, and eigenvalue > 1 (Kaiser Criteria), which were used to describe/select data. Overall, observing PC1, ethanol and glycerol were positively correlated, and acetic acid formation was negatively correlated, as expected. Furthermore, a correlation matrix (Pearson (n)) (Table S5) was evaluated to support a real representation of the data (Fig 5.A).

The first component separates Beer P (control), which contains the higher concentration of procyanidin B2 e A2, epigallocatechin gallate, myricetin, epicatechin gallate, acetic acid, caftaric acid e chlorogenic acid; from Beer A, Beer B, and Beer C (wort supplemented with MFP), which produced a higher quantity of ethanol, syrigic acid, glycerol, catechin, gallic acid, epicatechin, rutin, caffeic acid, quercitin 3-glucoside, and antioxidant activity (FRAP, ABTS, and DPPH, methods) (Fig. 5A). The second component separates Beer P (control) and Beer C, which produced a similar concentration of procyanidin B2 e A2, epigallocatechin gallate, myricetin, epicatechin gallate, acetic acid, caftaric acid, chlorogenic acid, catechin, gallic acid, epicatechin, rutin, caffeic acid, quercitin 3-glucoside, a hesperidin, and kaempferol 3-glucoside; From Beer A and B, which contain a similar quantity of ethanol, glycerol, syrigic acid, and antioxidant activity (FRAP, ABTS, and DPPH, methods) (Fig. 5A).

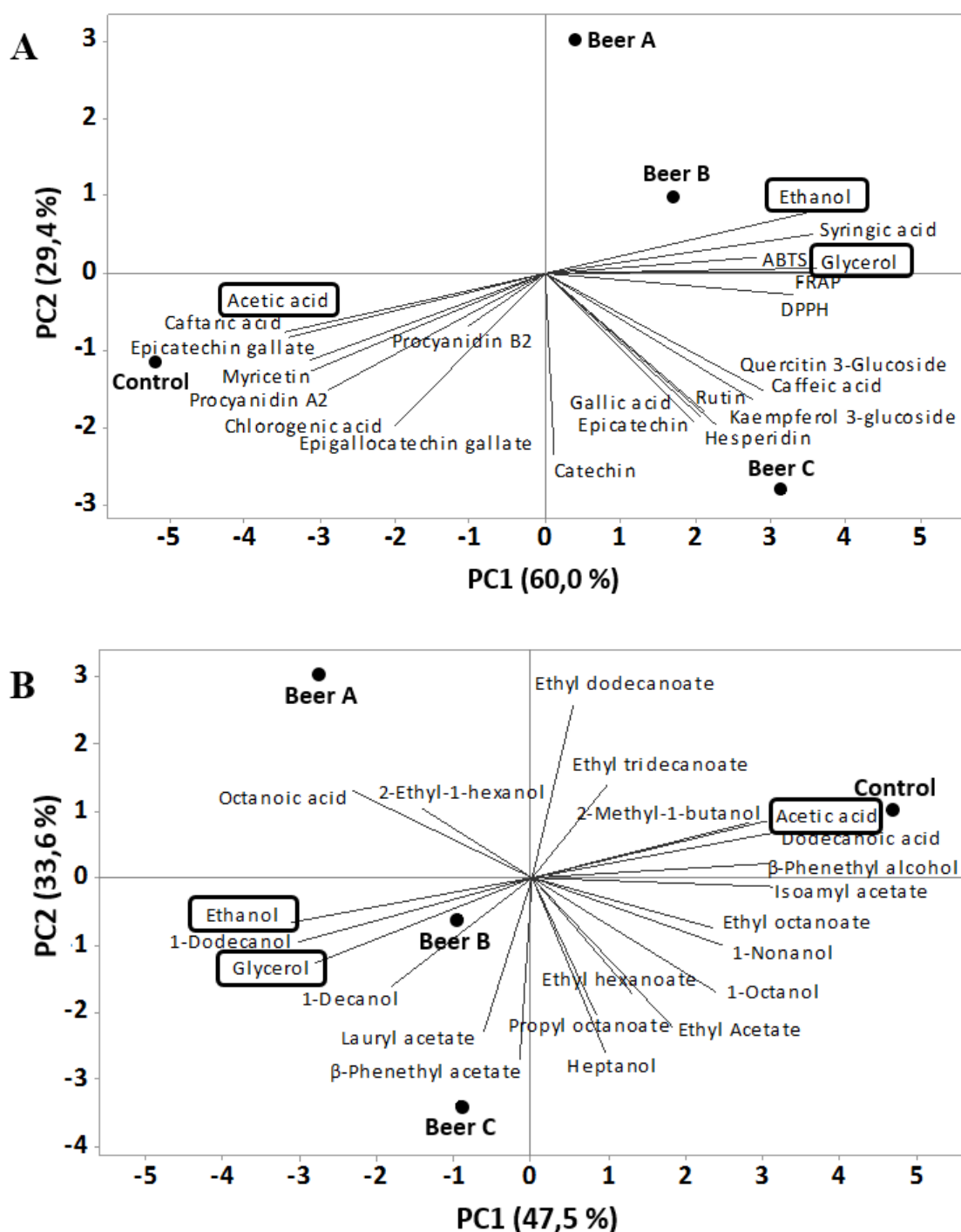


Fig. 5. Principal component analysis (Bi-Plot) of ethanol, glycerol, and acetic acid as fermentation markers; and its correlation with phenolic compounds (A), and aroma compounds (B). In total there are 4 fermentations across 4 treatments and triplicate replication. Treatments are: Beer P (control, 0 g of mandacaru fruit pulp/L), (100 g of mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g of mandacaru fruit pulp/L) e Beer C (300 g of mandacaru fruit pulp/L).

3.3 Principal component analysis (PCA) for volatile compounds

For the understanding of all linear correlation among ethanol, glycerol, and acetic acid as fermentation markers; and its correlation with aroma compounds was summarised using a PCA Bi-Plot (Fig. 5B). PC1 and PC2 accounted for 47.5% and 33.6% of the variance, respectively, which totals 81.1% of total variability. Therefore, PC1 and PC2 represent a cumulative variance >60%, and eigenvalue > 1 (Kaiser Criteria), which were used to describe/select data. Observing PC1, acetic acid formation was positively correlated, and ethanol and glycerol formation was negatively correlated, as expected. Furthermore, a correlation matrix (Pearson (n)) (Table S6) was evaluated to support a real representation of the data (Fig 5.B).

The first component separates Beer A, Beer B, and Beer C, which contained the higher concentration of volatile compounds such as octanoic acid, 2-ethyl-1-hexanol and, Phenethyl acetate, 1-decanol e 1-dodecanol, and lauryl acetate; from Beer P (control), which contains the higher concentration of volatile compounds such as acetic acid, ethyl octanoate, isoamyl acetate, β -Phenethyl alcohol (Fig. 5B). The second component separates Beer B and Beer C, which contains a similar concentration of volatile compounds such as phenethyl acetate, 1-decanol e 1-dodecanol, and lauryl acetate; from Beer P (Control) and Beer A, contains a similar concentration of volatile compounds such as ethyl octanoate, isoamyl acetate, phenethyl alcohol, octanoic acid, 2-ethyl-1-hexanol, and ethyl dodecanoate (Fig. 5B).

Overall, worts supplemented with MFP resulted in beers with a higher antioxidant properties, phenolic composition, and volatile compounds. Beer C contains more phenolic compounds such as flavonoid and tannis (Fig 5.A). Beer P (control) contains a higher concentration of phenolic compounds from as hydroxycinnamic acids' group. Furthermore, worts supplemented with MFP generated different volatile profiles, which increased the formation of positive aroma compounds such as phenethyl acetate, isoamyl acetate, and ethyl hexanoate. Therefore, worts supplemented with MFP were positive for increasing antioxidant properties, phenolic composition such as flavonoid and tannis, and volatile compounds such as esters and higher alcohols.

4. Discussion

Generally, wort supplementation with fruit pulps increases its antioxidant potential, which depends on the bioactive compounds present in fruit composition (Nardini &

Garaguso, 2020; Zapata *et al.*, 2019; Gasiński *et al.*, 2020). In brewing, yeast viability is an important parameter, which indicates the fermentation quality/performance, the relationship among oxygen, yeast growth and flavour is known (Ribeiro-Filho *et al.* 2021). Yeasts develop strategies to adapt to different environmental conditions such as pH, osmotic pressure, nutrients, oxygen, and temperature (Xiao *et al.* 2022; Li *et al.* 2020). To allow focus on MFP supplementation, the concentration of oxygen (12 ppm) and temperature (18 °C) were fixed, then, the influence of wort supplemented with MFP on total yeast cell and beer-flavour could be evaluated. In this study, was demonstrate an intricate and complex interaction among yeast growth, MFP supplementation and flavour formation, independent of oxygen. In our studies, all fermentations conducted presented a yeast viability above 85% and were not observed any significant difference among their yeast's viability (Fig. 1). All fermentation evaluated demonstrated that MFP supplementation did not influence the yeast viability, therefore, any change observed in aroma, and phenolic profile will be influenced by yeast metabolic activities or a simples addition of compounds from MFP.

During alcoholic fermentation, ethanol, glycerol, and acetic acid are important markers, which indicate the good fermentation and a formation of desirable compounds (Ribeiro-Filho *et al.* 2021). Results presented that beers A, B, and C presented a higher concentration of ethanol, and glycerol content than in a Beer P (control) ($p < 0.05$) (Fig. 2A). Ethanol and glycerol have an important role in yeast redox balance (Zhang *et al.* 2013), while glycerol also acts as an osmoprotectant (Zhanget *al.* 2011), which justified the fact of ethanol and glycerol were generated proportionally (Ribeiro-Filho *et al.* 2021). Therefore, when wort supplemented with MFP increased the ethanol formation and, as a consequence, the glycerol content due to its role in as an osmoprotectant, and the redox balance (Ribeiro-Filho *et al.* 2021, Zhang *et al.* 2013). The increase in ethanol content was surprising given but may occurred because of the amount of antioxidant compounds/oxidant activity presented in worts supplemented with MFP (Fig. 4B). As a consequence, the increase of glycerol occurred as a response to the increase osmolality related to ethanol formation (Ribeiro-Filho *et al.* 2021, Zhang *et al.*, 2011, 2013). However, further work is necessary to ascertain this mechanism.

During fermentation, yeasts consume buffering compounds (including amino acids, small peptides, vitamins and phosphates), and secrete organic acids (Boulton and Quain 2001; Briggs *et al.* 2004). Organic acids such as citric acid, malic acid, and succinic acid are produced by yeasts via the tricarboxylic acid (TCA) cycle. Acetic acid is also generated by yeasts metabolism, which occurred due to the Crabtree effect, which may be a competition

between glycolytic and oxidative phosphorylation system (Ribeiro-Filho *et al.* 2021, Briggs *et al.* 2004).

Therefore, a direct conversion from pyruvate to acetyl-CoA is repressed in brewing strains, then, pyruvate is converted to acetaldehyde, which is cumulated due to the high carbon flux brought forth from glycolysis to form ethanol. As a consequence, acetic acid was also cumulated via acetaldehyde dehydrogenases (ACDH), which involves potassium (K-ACDH) and/or magnesium presence (Mg-ACDH) using as NAD1 and NADP1 coenzymes, which is associated with redox balance (Boubekeur *et al.*, 2001). Results presented a reduction of acetic acid cumulation when wort was supplemented with MFP, and the formation of organic acids such as citric acid, malic acid, and succinic acid, which are produced via the tricarboxylic acid (TCA) cycle increased (Fig. 2B). The decrease of acetic acid formation and the increase of organic acids may be correlated to the repression/reduction of the direct conversion from pyruvate to acetyl-CoA, which was induced by the Crabtree effect because of the amount of antioxidant compounds/oxidant activity presented in worts supplemented with MFP. Of course, further work is needed to find out these precise relationships.

Moreover, the reduction of acetic acid cumulation can be also associated with ester formation, which are dependent on the reaction between an alcohol and acetyl-CoA (Knight *et al.*, 2014; Saerens *et al.* 2010). Results demonstrate that when worts were supplemented with MFP (including Beer A, beer B, and Beer C), a significant increase of relative abundance of ethyl acetate ($p < 0.05$), and phenethyl acetate ($p < 0.05$) were observed. On the other hand, supplemented worts (including Beer A, beer B, and Beer C), presented a reduction of ethyl octanoate, and ethyl decanoate (Fig. 3), which are similar to the reduction of its fatty acids precursor, which are octanoic acid, and decanoic acids, respectively. Acetate esters and fatty acid ethyl esters are precursors by higher alcohols and fatty acids, which both are generated via Ehrlich pathway (Yu *et al.* 2016, Hazelwood *et al.* 2008). In the brewery, yeasts are able to produce higher alcohols including isobutanol, isoamyl alcohol, and 2-methylbutanol, which are produced via catabolism of the amino acids valine, leucine and isoleucine, respectively (Ribeiro-Filho *et al.* 2021, Hazelwood *et al.* 2008).

Furthermore, fatty acids compounds including isobutyric acid, isovaleric acid and 2-methylbutyric are also produced via catabolism of the amino acids, which are valine, leucine and isoleucine, respectively (Yu *et al.* 2016). These suggest a competition between the formation of these two groups of compounds that influences the aroma formation. Moreover, control sample (Beer P) presented concentrations of 2-phenylethanol, and 2-

phenethyl acetate, which have as an amino acid precursor phenilamina via Ehrlich pathway. However, when worts were supplemented with MFP (100, 200, and 300 g/L), a significant increase of relative abundance of 2-phenethyl acetate ($p < 0.05$), and a significant reduction of 2-phenylethanol were observed (Fig. 3). Finally, our data indicate that the amount of antioxidant compounds/oxidant activity presented in worts supplemented with MFP may have an influence in the Ehrlich pathway. Nevertheless, further work is necessary to determine this exact influence.

Important phenolic compound increased due to MFP supplementation. Our results show that all samples contain the phenolic compound groups including flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and tannins (Fig. 4B). Among all samples evaluated were identified a high concentration of gallic acid, myricetin, epicatechin, procyanidin A2, and procyanidin B2. All other phenolic compounds measured presented a concentration lower than 1.0 mg/L. The concentration of tannins such as procyanidin B2 increased with MFP supplementation, this compound is formed by the polymerization of catechin and/or epicatechin. The antioxidant function of this compound is related to the presence of the phenyl hydroxyl group, which is related to anti-inflammatory effect (Yang *et al.*, 2021; Xiao *et al.*, 2022; Su *et al.*, 2018). Therefore, worts supplemented with MFP can be associated with products that contain nutritional value, and positive beneficial effects on health (Humia *et al.*, 2020; Nardini; Garaguso, 2020). In contrast, catechin, epicatechin, and rutin were the flavonoids with higher concentration identified in beers produced by using MFP as an adjunct.

Antioxidant activity in beers is associated with the presence of phenolic compounds. The antioxidant activity is a property generated by phenolic compounds presence, which are vital elements that fruits/vegetables provide for health protection and for preventing the cell oxidation process, which involves mechanisms such as neutralisation of free radicals and metal complexation (Santos *et al.* 2021). In this study, worts supplemented with MFP presented a significant influence in the antioxidant potential evaluated by the DPPH, ABTS and FRAP methods, which demonstrate a positive effect. For the ABTS method showed a better performance than FRAP and DPPH methods, the differences between these applied methods are attributed to the reaction mechanism and concentration of bioactive compounds such as phenolic compounds (Viana *et al.*, 2021). In this case, antioxidants neutralize the ABTS^{•+} radical by donating electrons or hydrogen, eliminating this free radical (Shahidi; Zhong, 2015). Finally, results obtained demonstrate that the supplementation of the MFP provided an increase of bioactive compounds, which influenced in the fermentation

performance without affect the yeast growth, and consequently, improved aroma profile, nutritional content and antioxidant potential of wort and beer; furthermore, it may increase beer shelf life and may change its sensory characteristics.

This study shows an understanding of MFP utilisation as a brewing adjunct. Therefore, its brewing potential, and its possibilities of reducing production costs. Furthermore, MFP supplementation influenced aroma, and phenolic profile without any effect on the yeast viability. As a consequence, the antioxidant activity was improved because the phenolic compounds increased. Ethanol and glycerol increased as a consequence of MFP supplementation. Our findings indicate that MFP supplementation may have an influence in the Ehrlich pathway due to the presence of the phenolic compound groups including flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and tannins. These phenolic groups influenced in the amount of antioxidant compounds/oxidant activity presented in worts supplemented. Nevertheless, further works are necessary to determine all influence precisely. Our manuscript creates a paradigm for future studies of the activation of yeast enzymes by the influence of phenolic compounds. In the future, MFP becomes a source of income for several families from semi-arid regions.

5. Conclusion

The utilization of MFP as an adjunct was investigated. Wort supplementation with MFP influences in the fermentation performance without affect the yeast growth, antioxidant potential, phenolic composition, aroma profile, and nutritional content, increasing the oxidative stability of the product. Sixty-one volatile compounds were identified including higher alcohols, and esters; and its concentration increased when wort were supplemented with MFP. Fifteen phenolic compounds from the group of flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and tannins were identified, and tannins are the most abundant in all samples, except beer B. Flavonoid and hydroxybenzoic acid increased its concentration when wort supplementation with MFP. Supplemented samples contain a higher concentration of ethanol, syrigic acid, glycerol, catechin, gallic acid, epicatechin, rutin, caffeic acid, quercitin 3-glucoside, and antioxidant activity (FRAP, ABTS, and DPPH, methods), and a higher concentration of volatile compounds.

CRediT authorship contribution statement

José Renato Da-Silva: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Software, Validation, Visualization, Writing – original draft, Writing - review & editing. **Lys Alves Gabriela Correia-Lima:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Software, Validation, Visualization, Writing – original draft. **Givanildo Luis Fernandes:** Data curation, Methodology, Conceptualization. **Normando Ribeiro-Filho:** Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Software, Supervision, Validation, Visualization, Writing – original draft, Writing - review & editing. **Marta Suely Madruga:** Data curation, Funding acquisition, Methodology, Project administration, Software, Validation. **Marcos dos Santos Lima:** Data curation, Funding acquisition, Methodology, Project administration, Software, Validation. **Marcelo Barbosa Muniz:** Funding acquisition, Project administration, Supervision, Formal analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing.

Declaration of Competing Interest

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.

Acknowledgements

We thank CAPES (Brazil) and Federal University of Paraiba for the financial support. The work was carried out in the Laboratory of Alcoholic Beverages' analysis and research and Food flavour at Federal University of Paraiba. Also, we would like to thank the Department of Food Technology, Federal Institute of Sertão Pernambucano (Campus Petrolina) for non-volatile compounds analysis.

References

Ball, S., & Lloyd, L. (2011). Analysis of typical components of alcoholic beverages. In S. Ball, S. Bullock, L. Lloyd, K. Mapp, & A. Ewen (Eds.), *Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography* (pp. 1–2). Santa Clara, CA, USA: Agilent Technologies Inc.. Available at: <https://www.agilent.com/cs/library/applications/59908801EN%20HiPlex%20Compendium.pdf>.

- Boubekur, S., Camougrand, N., Bunoust, O., Rigoulet, M., & Guérin, B. (2001). Participation of acetaldehyde dehydrogenases in ethanol and pyruvate metabolism of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *European Journal of Biochemistry*, 268, 5057–5065.
- Boulton, C., & Quain, D. (2001). *Brewing Yeast and Fermentation*. Oxford, UK: Blackwell Science.
- Briggs DE, Boulton CA, Brookes PA & Stevens R (2004) *Brewing: Science and Practice*. Woodhead, Cambridge, UK.
- Cadenas, R., Caballero, I., Nimubona, D., Blanco, C. A. (2021). Review Brewing with Starchy Adjuncts: Its Influence on the Sensory and Nutritional Properties of Beer. *Foods* 2021, 10, 1726. <https://doi.org/10.3390/foods10081726>
- Câmara Jr, A. A., & Sant'Ana, A. S. (2021). Advances in yeast preservation: physiological aspects for cell perpetuation. *Current Opinion in Food Science*, 38, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.019>
- Coelho, E. M., da Silva Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Sá, A. G. B., Pereira, G. E., de Azevedo, 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.
- De Araújo, F. F., De Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2021). Underutilized plants of the Cactaceae family: Nutritional aspects and technological applications. *Food chemistry*, 362, 130196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130196>
- 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>
- Ferreira, I. M., & Guido, L. F. (2018). Impact of wort amino acids on beer flavour: A review. *Fermentation*, 4(2), 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation4020023>
- 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>
- Hazelwood, L., Daran, J., van Maris, A., Pronk, J., & Dickinson, J. (2008). The Ehrlich Pathway for Fusel Alcohol Production: A Century of Research on *Saccharomyces cerevisiae* Metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3920- 3920.
- Humia, B. V., Santos, K. S., Schneider, J. K., Leal, I. L., de Abreu Barreto, G., Batista, T., Machado, B. A. S., Druzian, J. I., Krause, L. C., Mendonça, M. C., & Padilha, F. F. (2020). Physicochemical and sensory profile of Beaugard sweet potato beer. *Food Chemistry*, 312, 126087. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126087>.
- 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>.

- Knight, M. J., Bull, I. D., & Curnow, P. (2014). The yeast enzyme Eht1 is an octanoyl-CoA:Ethanol acyltransferase that also functions as a thioesterase. *Yeast*, 31(12), 463–474. <https://doi.org/10.1002/yea.v31.1210.1002/yea.3046>.
- Leonard, W., Zhang, P., Ying, D., Adhikari, B., & Fang, Z. (2021). Fermentation transforms the phenolic profiles and bioactivities of plant-based foods. *Biotechnology Advances*, 49, 107763. doi:10.1016/j.biotechadv.2021.107763
- Li, G., Wei, M., Sun, J., Zhang, Y., & Zhang, R. (2020). Low false positive and accurate detection of yeast cell viability and concentration using an automatic staining and lensfree imaging platform. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(3), 793-799. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.155>.
- Mota, T. R., Linhares, H. V., Araújo-Filho, J. H., Veras, D. M., Costa, H. P. S., Souza, C. M. P., Souza, P. F. N., & Martins, T. F. (2019). Protein extract from *Cereus jamacaru* (DC.) inhibits *Colletotrichum gloeosporioides* growth by stimulating ROS generation and promoting severe cell membrane damage. *Microbial pathogenesis*, 130, 71-80. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.033>
- 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>.
- Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., de Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., & dos Santos Lima, M. (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>.
- Pierce, J. S (1970). Institute of Brewing Analysis Committee: Measurement of Yeast Viability. *Journal of The Institute of Brewing*, 76, 442–443. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1970.tb03325.x>.
- Rahman, M. J., Liang, J., Eskin, N. M., Eck, P., & Thiyam-Holländer, U. (2020). Identification of hydroxycinnamic acid derivatives of selected canadian and foreign commercial beer extracts and determination of their antioxidant properties. *LWT*, 122, 109021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109021>
- Ribeiro-Filho, N., Linforth, R., Powell, C. D., & Fisk, I. D. (2021). Influence of essential inorganic elements on flavour formation during yeast fermentation. *Food Chemistry*, 361, 130025. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130025>.
- Saerens, S. M. G., Delvaux, F. R., Verstrepen, K. J., & Thevelein, J. M. (2010). Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Biotechnology*, 3(2), 165–177. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00106.x>.
- Santos, J. F., Gonçalves, J.L.C., Jesus, R.A., Nogueira, P.C.L., Scher, R. (2021). Bioactive profile of mandacaru fruits and cytotoxicity against the L929 cell line. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 15(5), pp. 215-225, DOI: 10.5897/JMPR2020.7060
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.

- Sterczyńska, M., Stachnik, M., Poreda, A., Pużyńska, K., Piepiórka-Stepuk, J., Fiutak, G., & Jakubowski, M. (2021). Ionic composition of beer worts produced with selected unmalted grains. *LWT*, 137, 110348. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110348>
- Stewart, G. (2017). The Production of Secondary Metabolites with Flavour Potential during Brewing and Distilling Wort Fermentations. *Fermentation*, 3(4), 63. <http://doi.org/10.3390/fermentation3040063>
- Su, H., Li, Y., Hu, D., Xie, L., Ke, H., Zheng, X., & Chen, W. (2018). Procyanidin B2 ameliorates free fatty acids-induced hepatic steatosis through regulating TFEB-mediated lysosomal pathway and redox state. *Free Radical Biology and Medicine*, 126, 269-286.
- Viana, A. C., Pimentel, T. C., do Vale, R. B., Clementino, L. S., Ferreira, E. T. J., Magnani, M., & dos Santos Lima, M. (2021). American pale Ale craft beer: Influence of brewer's yeast strains on the chemical composition and antioxidant capacity. *LWT*, 152, 112317. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112317>.
- Xiao, Y., Wang, Z., Sun, W., Luan, Y., Piao, M., & Deng, Y. (2022). Characterization and formation mechanisms of viable, but putatively non-culturable brewer's yeast induced by isomerized hop extract. *LWT*, 155, 112974. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112974>.
- Yang, H., Tuo, X., Wang, L., Tundis, R., Portillo, M. P., Simal-Gandara, J., Deng, J. (2021). Bioactive procyanidins from dietary sources: The relationship between bioactivity and polymerization degree. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 114-127. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.063>.
- Yu, A., Pratomo Juwono, N., Foo, J., Leong, S., & Chang, M. (2016). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the overproduction of short branched-chain fatty acids. *Metabolic Engineering*, 34, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2015.12.005>.
- 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>.
- Zhang, L., Tang, Y., Guo, Z., & Shi, G. (2013). Engineering of the glycerol decomposition pathway and cofactor regulation in an industrial yeast improves ethanol production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 40(10), 1153–1160.
- Zhang, L., Tang, Y., Guo, Z.-P., Ding, Z.-Y., & Shi, G.-Y. (2011). Improving the ethanol yield by reducing glycerol formation using cofactor regulation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Letters*, 33(7), 1375–1380.

SUPPLEMENTARY DATA

SUPPLEMENTARY: Full data of ethanol, glycerol, organic acids, relative area abundance of volatile compounds, and phenolic compounds identified. Treatments evaluated are Beer P (control), Beer A (100 g mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g mandacaru fruit pulp/L), and Beer C (300 g mandacaru fruit pulp/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.

Table S1: Ethanol, glycerol and organic acids quantified in the control beer and in the beers produced with 100 g/L (Beer A), 200 g/L, (Beer B) and 300 g/L (Beer C) of mandacaru fruit

Compounds	Beers			
	Control	Beer A	Beer B	Beer C
Ethanol (g/L)	28.5 ^b ± 0.3	29.5 ^a ± 0.6	29.5 ^a ± 0.6	29.5 ^a ± 0.7
Glycerol (g/L)	2.67 ^c ± 0.03	4.63 ^b ± 0.06	4.50 ^b ± 0.06	5.37 ^a ± 0.07
<i>Organic acids (g/L)</i>				
Acetic acid	0.10 ^a ± 0.001	n.d.	n.d.	n.d.
Lactic acid	0.14 ^d ± 0.002	0.42 ^a ± 0.006	0.26 ^c ± 0.004	0.35 ^b ± 0.005
Citric acid	0.42 ^c ± 0.006	0.30 ^d ± 0.004	0.49 ^b ± 0.007	0.52 ^a ± 0.007
Malic acid	0.48 ^c ± 0.007	0.48 ^c ± 0.007	0.96 ^a ± 0.013	0.57 ^b ± 0.008
Succinic acid	0.16 ^d ± 0.002	0.26 ^a ± 0.004	0.20 ^b ± 0.003	0.19 ^c ± 0.003
Formic acid	0.44 ^d ± 0.006	0.49 ^c ± 0.007	0.54 ^a ± 0.008	0.52 ^b ± 0.007
Propionic acid	3.15 ^b ± 0.044	2.55 ^c ± 0.036	4.58 ^a ± 0.064	4.53 ^a ± 0.063
ΣQuantified acids	4.91^c ± 0.076	4.52^d ± 0.072	7.04^a ± 0.108	6.67^b ± 0.102

Different lower case letters in the same line indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to the Tukey test.

n.d. – not detected

Table S2: Abundance relative (% of total area) of volatile compounds identified by HS-SPME-GC-MS method. Treatments evaluated are Beer P (control), Beer A (100 g mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g mandacaru fruit pulp/L), and Beer C (300 g mandacaru fruit pulp/L). All data is present: average of abundance relative, Tukey test and standard deviation.

	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	Abundance relative (%)			
						Control beer	Beer A	Beer B	Beer C
1	Octanoic acid	124-07-2	1180	1191	Fatty acid	13.2 ^b ± 0.3	29.8 ^a ± 1.0	29.3 ^a ± 1.8	14.6 ^b ± 2.2
2	Dodecanoic acid	143-07-7	1568	1569	Fatty acid	0.08 ^a ± 0.01	0.03 ^{ab} ± 0.03	0.02 ^b ± 0.02	0.01 ^b ± 0.00
3	2-Methyl-1-butanol	137-32-6	739	<800	Higher alcohol	15.2 ^a ± 0.5	9.0 ^b ± 1.0	6.9 ^c ± 0.6	8.9 ^{bc} ± 0.8
4	Hexanol	111-27-3	868	868	Higher alcohol	0.08 ^a ± 0.0	0.04 ^b ± 0.01	0.04 ^b ± 0.01	0.03 ^b ± 0.01
5	Heptanol	111-70-6	970	977	Higher alcohol	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.01
6	2-Ethyl-1-hexanol	104-76-7	1030	1034	Higher alcohol	0.19 ^{bc} ± 0.03	0.3 ^b ± 0.1	1.56 ^a ± 0.02	0.07 ^c ± 0.04
7	1-Octanol	111-87-5	1071	1075	Higher alcohol	0.27 ^a ± 0.08	0.15 ^a ± 0.01	0.25 ^a ± 0.04	0.25 ^a ± 0.04
8	β-Phenethyl alcohol	60-12-8	1116	1110	Higher alcohol	48.0 ^a ± 3.6	23.2 ^{bc} ± 0.7	21.3 ^c ± 2.4	28.6 ^b ± 1.9
9	1-Nonanol	143-08-8	1173	1174	Higher alcohol	0.11 ^a ± 0.05	0.03 ^{ab} ± 0.01	0.07 ^{ab} ± 0.01	0.02 ^b ± 0.01
10	9-Decen-1-ol	13019-22-2	1262	1266	Higher alcohol	0.2 ^a ± 0.1	0.06 ^b ± 0.01	0.06 ^b ± 0.01	0.03 ^b ± 0.01
11	1-Decanol	112-30-1	1273	1275	Higher alcohol	0.3 ^a ± 0.1	0.3 ^a ± 0.1	0.5 ^a ± 0.2	0.4 ^a ± 0.2
12	1-Dodecanol	112-53-8	1473	1476	Higher alcohol	n.d.	0.06 ^b ± 0.01	0.11 ^{ab} ± 0.06	0.19 ^a ± 0.05
13	Benzeneacetaldehyde	122-78-1	1045	1044	Aldehyde	0.08 ^a ± 0.01	0.03 ^b ± 0.03	0.03 ^{ab} ± 0.01	0.05 ^{ab} ± 0.01
14	Nonanal	124-19-6	1104	1105	Aldehyde	0.05 ^a ± 0.01	0.02 ^b ± 0.01	0.05 ^a ± 0.01	0.05 ^a ± 0.01
15	Ethyl Acetate	141-78-6	612	<800	Esters	0.9 ^b ± 0.1	0.53 ^b ± 0.04	0.9 ^b ± 0.3	1.0 ^a ± 0.1
16	Ethyl butanoate	105-54-4	802	804	Esters	0.04 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.01
17	Isoamyl acetate	123-92-2	876	879	Esters	2.2 ^a ± 0.3	0.9 ^b ± 0.2	1.5 ^a ± 0.3	1.2 ^{ab} ± 0.3
18	Ethyl hexanoate	123-66-0	1000	1004	Esters	1.4 ^a ± 0.3	0.6 ^b ± 0.2	0.6 ^b ± 0.2	0.7 ^b ± 0.1
19	Ethyl benzoate	93-89-0	1171	1172	Esters	0.08 ^b ± 0.05	0.31 ^b ± 0.04	0.9 ^a ± 0.3	0.8 ^a ± 0.2

Different lower case letters in the same line indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to the Tukey test.

CAS (Chemical Abstracts Service). RI Lit: Literature retention index. RI Cal: Calculated retention index

n.d. – not detected

	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	Abundance relative (%)			
						Control beer	Beer A	Beer B	Beer C
20	Ethyl octanoate	106-32-1	1196	1199	Esters	6.0 ^a ± 0.3	4.0 ^c ± 0.5	4.6 ^{bc} ± 0.3	4.9 ^b ± 0.06
21	Ethyl phenacetate	101-97-3	1246	1247	Esters	0.12 ^a ± 0.02	0.08 ^b ± 0.00	0.12 ^a ± 0.01	0.10 ^{ab} ± 0.01
22	β-Phenethyl acetate	103-45-7	1258	1262	Esters	2.9 ^c ± 0.1	2.6 ^d ± 0.1	4.2 ^b ± 0.1	4.95 ^a ± 0.02
23	Propyl octanoate	624-13-5	1290	1287	Esters	0.12 ^a ± 0.07	0.06 ^a ± 0.02	0.07 ^a ± 0.04	0.07 ^a ± 0.01
24	Ethyl nonanoate	123-29-5	1296	1291	Esters	0.004 ^c ± 0.002	0.005 ^c ± 0.002	0.10 ^a ± 0.00	0.09 ^b ± 0.00
25	Ethylphenyl propanoate	2021-28-5	1353	1349	Esters	0.02 ^a ± 0.004	0.03 ^a ± 0.005	0.05 ^a ± 0.04	0.02 ^a ± 0.01
26	Citronellol acetate	150-84-5	1354	1352	Esters	0.03 ^{ab} ± 0.02	0.02 ^b ± 0.004	0.06 ^a ± 0.04	0.02 ^{ab} ± 0.003
27	Ethyl 9-decenoate	67233-91-4	1387	1389	Esters	1.35 ^c ± 0.01	10.9 ^b ± 0.9	19.3 ^a ± 2.2	12.5 ^b ± 0.9
28	Ethyl decanoate	110-38-3	1396	1401	Esters	2.08 ^c ± 0.05	11.7 ^b ± 0.2	2.5 ^c ± 0.1	13.6 ^a ± 0.5
29	β-Phenethyl n-butanoate	103-52-6	1447	1444	Esters	0.03 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.005	0.04 ^a ± 0.01	0.04 ^a ± 0.01
30	2-Methylbutyl octanoate	67121-39-5	1449	1452	Esters	0.02 ^a ± 0.004	0.01 ^a ± 0.002	0.03 ^a ± 0.02	0.02 ^a ± 0.01
31	Ethyl dodecanoate	106-33-2	1595	1598	Esters	0.70 ^b ± 0.03	1.13 ^a ± 0.02	0.58 ^b ± 0.07	0.56 ^b ± 0.10
32	Lauryl acetate	112-66-3	1607	1610	Esters	n.d.	n.d.	n.d.	0.02 ^a ± 0.01
33	Ethyl tridecanoate	28267-29-0	1687	1690	Esters	0.01 ^a ± 0.001	0.01 ^a ± 0.002	0.02 ^a ± 0.01	n.d.
34	Methyl 2,6,10-trimethyltridecanoate	73105-76-7	1764	17589	Esters	0.07 ^a ± 0.03	0.01 ^b ± 0.001	0.02 ^b ± 0.01	n.d.
35	Ethyl tetradecanoate	124-06-1	1794	1795	Esters	0.16 ^a ± 0.03	0.08 ^{ab} ± 0.03	0.09 ^{ab} ± 0.05	0.03 ^b ± 0.01
36	2-Phenethyl octanoate	5457-70-5	1851	1849	Esters	n.d.	0.01 ^a ± 0.0	0.01 ^a ± 0.01	n.d.
37	Ethyl pentadecanoate	41114-00-5	1894	1895	Esters	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.01	n.d.
38	Ethyl 9-hexadecenoate	54546-22-4	1977	1975	Esters	0.03 ^a ± 0.02	0.01 ^a ± 0.01	n.d.	n.d.
39	Ethyl hexadecanoate	628-97-7	1993	1995	Esters	0.07 ^a ± 0.01	0.05 ^{ab} ± 0.01	0.03 ^{bc} ± 0.01	0.02 ^c ± 0.01
40	2,4-di-t-Butylphenol	96-76-4	1519	1514	Phenol	0.08 ^b ± 0.03	0.02 ^b ± 0.01	0.05 ^b ± 0.003	0.25 ^a ± 0.06

Different lower case letters in the same line indicate a significant difference (p<0.05) according to the Tukey test.

CAS (Chemical Abstracts Service). RI Lit: Literature retention index. RI Cal: Calculated retention index

n.d. - not detected

	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	Abundance relative (%)			
						Control beer	Beer A	Beer B	Beer C
41	2,6,11-Trimethyldodecane	31295-56-4	1275	1271	Hydrocarbon	0.23 ^b ± 0.06	0.42 ^a ± 0.02	0.07 ^c ± 0.03	0.05 ^c ± 0.02
42	Pentadecane	629-62-9	1500	1496	Hydrocarbon	0.04 ^b ± 0.01	0.23 ^a ± 0.01	0.06 ^b ± 0.03	0.27 ^a ± 0.02
43	3-Phenylundecane	4536-87-2	1667	1669	Hydrocarbon	0.08 ^a ± 0.03	0.05 ^a ± 0.01	0.05 ^a ± 0.01	0.05 ^a ± 0.02
44	2-Phenylundecane	4536-88-3	1708	1704	Hydrocarbon	0.02 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.01
45	γ-Nonalactone	104-61-0	1363	1363	Lactone	0.43 ^a ± 0.03	0.23 ^b ± 0.02	0.26 ^b ± 0.04	0.22 ^b ± 0.01
46	γ-Decalactone	706-14-9	1470	1471	Lactone	0.13 ^a ± 0.03	0.07 ^b ± 0.01	0.05 ^b ± 0.03	0.06 ^b ± 0.01
47	1,4-Oxathiane	15980-15-1	882	890	Sulphurized	0.03 ^{ab} ± 0.01	0.06 ^a ± 0.03	0.05 ^{ab} ± 0.02	0.01 ^b ± 0.00
48	β-Myrcene	123-35-3	991	992	Terpene	0.05 ^d ± 0.02	0.16 ^c ± 0.03	0.64 ^b ± 0.06	0.81 ^a ± 0.02
49	o-Cymene	527-84-4	1022	1023	Terpene	0.02 ^b ± 0.01	0.04 ^b ± 0.01	0.07 ^b ± 0.03	0.16 ^a ± 0.03
50	Limonene	138-86-3	1030	1027	Terpene	0.05 ^c ± 0.02	0.16 ^c ± 0.02	0.43 ^b ± 0.05	0.59 ^a ± 0.07
51	β-Ocimene	13877-91-3	1037	1041	Terpene	0.01 ^b ± 0.01	0.04 ^b ± 0.01	0.15 ^a ± 0.01	0.18 ^a ± 0.03
52	γ-Terpinene	99-85-4	1060	1051	Terpene	0.02 ^b ± 0.01	0.07 ^b ± 0.01	0.25 ^a ± 0.06	0.31 ^a ± 0.05
53	p-Cymenene	1195-32-0	1090	1088	Terpene	0.03 ^b ± 0.01	0.08 ^b ± 0.02	0.28 ^a ± 0.08	0.32 ^a ± 0.05
54	Linalool	78-70-6	1099	1100	Terpene	0.09 ^c ± 0.01	0.46 ^b ± 0.01	1.40 ^a ± 0.05	1.46 ^a ± 0.26
55	Cosmene	460-01-5	1131	1130	Terpene	n.d.	0.04 ^b ± 0.00	0.09 ^b ± 0.03	0.13 ^a ± 0.01
56	β-Farnesene	18794-84-8	1457	1459	Terpene	0.18 ^a ± 0.09	0.06 ^b ± 0.0	0.11 ^{ab} ± 0.03	0.08 ^{ab} ± 0.02
57	Curcumene	644-30-4	1483	1486	Terpene	0.07 ^a ± 0.03	0.03 ^a ± 0.0	0.02 ^a ± 0.01	0.04 ^a ± 0.01
58	α-Farnesene	502-61-4	1508	1510	Terpene	0.05 ^a ± 0.02	0.02 ^b ± 0.00	0.04 ^{ab} ± 0.01	0.06 ^a ± 0.01
59	trans-Calamenene	73209-42-4	1529	1527	Terpene	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.01
60	E-Nerolidol	40716-66-3	1564	1566	Terpene	0.10 ^a ± 0.05	0.02 ^b ± 0.00	0.04 ^{ab} ± 0.02	0.04 ^{ab} ± 0.01
61	Cadalene	483-78-3	1674	1680	Terpene	0.04 ^a ± 0.02	0.01 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.00

Different lower case letters in the same line indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to the Tukey test.
CAS (Chemical Abstracts Service). RI Lit: Literature retention index. RI Cal: Calculated retention index

n.d. - not detected

Table S3: Antioxidant activity of control beer and in the beers produced with 100 g/L (Beer A), 200 g/L (Beer B) and 300 g/L (Beer C) of mandacaru fruit

Beer	Antioxidant activity (mmol TEAC/L)		
	DPPH	ABTS	FRAP
Control	3.3 ^d ± 0.02	9.5 ^d ± 0.3	7.3 ^c ± 0.2
A	4.8 ^c ± 1.2	11.4 ^c ± 0.3	9.94 ^b ± 0.3
B	7.24 ^a ± 0.04	15.9 ^a ± 0.35	11.0 ^a ± 0.1
C	6.8 ^b ± 0.02	13.1 ^b ± 0.3	11.3 ^a ± 0.2

Different lower case letters in the same line indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to the Tukey test.

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity. DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl. ABTS: 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid). FRAP: Ferric reducing antioxidant power

Table S4: Phenolic profile obtained from treatments evaluated including Beer P (control), Beer A (100 g mandacaru fruit pulp/L), Beer B (200 g mandacaru fruit pulp/L), and Beer C (300 g mandacaru fruit pulp/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.

Phenolic compounds (mg/L)	Beer			
	Control	Beer A	Beer B	Beer C
<i>Tannins</i>				
Procyanidin A2	1.64 ^a ± 0.02	0.98 ^d ± 0.01	1.09 ^c ± 0.02	1.14 ^b ± 0.02
Procyanidin B2	7.75 ^b ± 0.11	7.74 ^b ± 0.11	n.d.	8.04 ^a ± 0.11a
Σ Quantified tannins	9.39 ^a ± 0.13	8.72 ^b ± 0.12	1.09 ^c ± 0.02	9.18 ^a ± 0.13
<i>Flavonols</i>				
Rutin	n.d.	0.02 ^b ± 0.02	n.d.	0.44 ^a ± 0.043
Caquechin	0.67 ^b ± 0.009	0.49 ^d ± 0.007	0.65 ^c ± 0.009	0.72 ^a ± 0.010
Kaempferol 3-glucoside	n.d.	n.d.	n.d.	0.18 ^a ± 0.002
Myricetin	2.57 ^a ± 0.036	1.56 ^d ± 0.022	1.84 ^b ± 0.026	1.78 ^c ± 0.025
Epicatechin	1.67 ^c ± 0.023	1.47 ^d ± 0.021	2.05 ^b ± 0.029	3.86 ^a ± 0.054
Quercetin 3-glucoside	0.15 ^c ± 0.02	0.16 ^c ± 0.02	0.18 ^b ± 0.03	0.21 ^a ± 0.03
Epigallocatechin gallate	0.09 ^a ± 0.001	0.013 ^d ± 0	0.049 ^c ± 0.001	0.063 ^b ± 0.001
Epicatechin gallate	0.23 ^a ± 0.003	n.d.	n.d.	n.d.
Hesperidin	n.d.	n.d.	n.d.	1.48 ^a ± 0.0
Σ Quantified flavonols	5.40 ^b ± 0.08	3.73 ^d ± 0.05	4.78 ^c ± 0.11	8.72 ^a ± 0.12
<i>Hydroxybenzoic acids</i>				
Gallic acid	5.17 ^c ± 0.07	4.65 ^d ± 0.06	5.74 ^b ± 0.08	6.22 ^a ± 0.09
Syringic acid	n.d.	0.09 ^b ± 0.001	0.12 ^a ± 0.001	0.10 ^a ± 0.001
Σ Quantified hydroxybenzoic acids	5.17 ^c ± 0.07	4.74 ^d ± 0.07	5.85 ^b ± 0.08	6.33 ^a ± 0.09
<i>Hydroxycinnamic acids</i>				
Caffeic acid	n.d.	n.d.	0.064 ^b ± 0.001	0.13 ^a ± 0.002
Caftaric acid	0.66 ^a ± 0.01	0.32 ^c ± 0.01	0.34 ^b ± 0.001	0.33 ^{bc} ± 0.005
Chlorogenic acid	0.88 ^a ± 0.012	0.54 ^d ± 0.008	0.58 ^c ± 0.008	0.66 ^b ± 0.009
Σ Quantified hidroxcinnamic acids	1.55 ^a ± 0.02	0.86 ^d ± 0.01	0.98 ^c ± 0.01	1.12 ^b ± 0.02
Σ Quantified phenolics	21.52 ^b ± 0.30	18.06 ^c ± 0.25	12.63 ^d ± 0.170	25.35 ^a ± 0.35

Different lower case letters in the same line indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to the Tukey test.

n.d. – not detected

Table S5: Correlation matrix (Pearson (n)) among phenolic compounds

Variables	Ethanol	Glycerol	Acetic acid	Gallic acid	Syringic acid	Hesperidin	Catechin	Procyanidin B2	Epigallocatechin gallate	Epicatechin	Epicatechin gallate	Procyanidin A2	Caftaric acid	Caffeic acid	Chlorogenic acid	Myricetin	Quercetin 3-Glucoside	Rutin	Kaempferol 3-glucoside
Ethanol	1	0.058	1E-10	0.727	0.012	0.667	0.736	0.682	0.243	0.636	0.000	0.026	0.001	0.488	0.056	0.035	0.506	0.646	0.667
Glycerol	0.942	1	0.058	0.538	0.055	0.373	0.956	0.904	0.406	0.366	0.058	0.132	0.057	0.283	0.208	0.106	0.286	0.355	0.373
Acetic acid	-1	-0.942	1	0.727	0.012	0.667	0.736	0.682	0.243	0.636	0.000	0.026	0.001	0.488	0.056	0.035	0.506	0.646	0.667
Gallic acid	0.273	0.462	-0.273	1	0.596	0.241	0.144	0.744	0.582	0.119	0.727	0.954	0.759	0.062	0.967	0.956	0.075	0.265	0.241
Syringic acid	0.988	0.945	-0.988	0.404	1	0.613	0.873	0.605	0.347	0.555	0.012	0.069	0.019	0.392	0.101	0.086	0.415	0.598	0.613
Hesperidin	0.333	0.627	-0.333	0.759	0.387	1	0.419	0.635	0.849	0.024	0.667	0.835	0.667	0.111	0.978	0.754	0.083	0.001	0.000
Catechin	-0.264	-0.044	0.264	0.856	-0.127	0.581	1	0.914	0.173	0.313	0.736	0.522	0.705	0.336	0.459	0.525	0.338	0.454	0.419
Procyanidin B2	-0.318	-0.096	0.318	-0.256	-0.396	0.365	-0.086	1	0.944	0.835	0.682	0.730	0.721	0.899	0.631	0.855	0.964	0.615	0.635
Epigallocatechin gallate	-0.757	-0.594	0.757	0.418	-0.653	0.151	0.827	0.056	1	0.782	0.243	0.115	0.221	0.865	0.099	0.112	0.861	0.886	0.849
Epicatechin	0.364	0.634	-0.364	0.881	0.445	0.976	0.687	0.165	0.218	1	0.636	0.832	0.647	0.038	0.961	0.775	0.023	0.032	0.024
Epicatechin gallate	-1	-0.942	1.000	-0.273	-0.988	-0.333	0.264	0.318	0.757	-0.364	1	0.026	0.001	0.488	0.056	0.035	0.506	0.646	0.667
Procyanidin A2	-0.974	-0.868	0.974	-0.046	-0.931	-0.165	0.478	0.270	0.885	-0.168	0.974	1	0.020	0.691	0.011	0.009	0.707	0.808	0.835
Caftaric acid	-0.999	-0.943	0.999	-0.241	-0.981	-0.333	0.295	0.279	0.779	-0.353	0.999	0.980	1	0.508	0.051	0.024	0.523	0.645	0.667
Caffeic acid	0.512	0.717	-0.512	0.938	0.608	0.889	0.664	-0.101	0.135	0.962	-0.512	-0.309	-0.492	1	0.796	0.666	0.002	0.121	0.111
Chlorogenic acid	-0.944	-0.792	0.944	0.033	-0.899	-0.022	0.541	0.369	0.901	-0.039	0.944	0.989	0.949	-0.204	1	0.037	0.819	0.952	0.978
Myricetin	-0.965	-0.894	0.965	-0.044	-0.914	-0.246	0.475	0.145	0.888	-0.225	0.965	0.991	0.976	-0.334	0.963	1	0.674	0.725	0.754
Quercetin 3-Glucoside	0.494	0.714	-0.494	0.925	0.585	0.917	0.662	-0.036	0.139	0.977	-0.494	-0.293	-0.477	0.998	-0.181	-0.326	1	0.093	0.083
Rutin	0.354	0.645	-0.354	0.735	0.402	0.999	0.546	0.385	0.114	0.968	-0.354	-0.192	-0.355	0.879	-0.048	-0.275	0.907	1	0.001
Kaempferol 3-glucoside	0.333	0.627	-0.333	0.759	0.387	1.000	0.581	0.365	0.151	0.976	-0.333	-0.165	-0.333	0.889	-0.022	-0.246	0.917	0.999	1

Table S6: Correlation matrix (Pearson (n)) among volatile compounds

Variables	Ethanol	Glycerol	Acetic acid	Octanoic acid	Dodecanoic acid	2-Methyl-1-butanol	Heptanol	2-Ethyl-1-hexanol	1-Octanol	β -Phenethyl alcohol	1-Nonanol	1-Decanol	1-Dodecanol	Ethyl Acetate	Isoamyl acetate	Ethyl hexanoate	Ethyl octanoate	β -Phenethyl acetate	Propyl octanoate	Ethyl dodecanoate	Lauryl acetate	Ethyl tridecanoate
Ethanol	1	0.058	0.000	0.376	0.020	0.043	0.929	0.589	0.466	0.033	0.403	0.251	0.006	0.665	0.101	0.871	0.430	0.707	0.846	0.578	0.667	0.698
Glycerol	0.942	1	0.058	0.671	0.016	0.145	0.826	0.909	0.611	0.173	0.426	0.303	0.038	0.874	0.145	0.792	0.407	0.495	0.869	0.447	0.373	0.412
Acetic acid	-1.000	-0.942	1	0.376	0.020	0.043	0.929	0.589	0.466	0.033	0.403	0.251	0.006	0.665	0.101	0.871	0.430	0.707	0.846	0.578	0.667	0.698
Octanoic acid	0.624	0.329	-0.624	1	0.520	0.329	0.310	0.092	0.305	0.206	0.549	0.601	0.449	0.257	0.401	0.145	0.666	0.571	0.743	0.805	0.471	0.531
Dodecanoic acid	-0.980	-0.984	0.980	-0.480	1	0.109	0.994	0.778	0.476	0.101	0.343	0.325	0.019	0.714	0.079	0.957	0.345	0.643	0.776	0.565	0.513	0.513
2-Methyl-1-butanol	-0.957	-0.855	0.957	-0.671	0.891	1	0.993	0.427	0.639	0.032	0.637	0.112	0.039	0.793	0.255	0.772	0.682	0.643	0.902	0.462	0.778	0.913
Heptanol	-0.071	0.174	0.071	-0.690	-0.006	-0.007	1	0.490	0.183	0.769	0.429	0.614	0.962	0.049	0.652	0.195	0.523	0.067	0.278	0.159	0.261	0.577
2-Ethyl-1-hexanol	0.411	0.091	-0.411	0.908	-0.222	-0.573	-0.510	1	0.656	0.374	0.966	0.522	0.641	0.533	0.752	0.107	0.907	0.670	0.878	0.939	0.341	0.257
1-Octanol	-0.534	-0.389	0.534	-0.695	0.524	0.361	0.817	-0.344	1	0.420	0.072	0.895	0.556	0.046	0.190	0.499	0.128	0.406	0.139	0.465	0.760	0.913
β -Phenethyl alcohol	-0.967	-0.827	0.967	-0.794	0.899	0.968	0.231	-0.626	0.580	1	0.453	0.251	0.055	0.555	0.149	0.631	0.512	0.869	0.868	0.686	0.909	0.944
1-Nonanol	-0.597	-0.574	0.597	-0.451	0.657	0.363	0.571	-0.034	0.928	0.547	1	0.916	0.467	0.216	0.111	0.855	0.009	0.661	0.119	0.644	0.873	0.548
1-Decanol	0.749	0.697	-0.749	0.399	-0.675	-0.889	0.386	0.478	0.105	-0.749	0.084	1	0.205	0.765	0.618	0.964	0.890	0.352	0.462	0.179	0.687	0.995
1-Dodecanol	0.994	0.962	-0.994	0.551	-0.981	-0.961	0.038	0.359	-0.444	-0.945	-0.533	0.795	1	0.770	0.139	0.956	0.484	0.604	0.928	0.484	0.588	0.655
Ethyl Acetate	-0.335	-0.126	0.335	-0.743	0.286	0.207	0.951	-0.467	0.954	0.445	0.784	0.235	-0.230	1	0.383	0.305	0.296	0.207	0.181	0.292	0.485	0.816
Isoamyl acetate	-0.899	-0.855	0.899	-0.599	0.921	0.745	0.348	-0.248	0.810	0.851	0.889	-0.382	-0.861	0.617	1	0.852	0.131	0.987	0.430	0.950	0.734	0.574
Ethyl hexanoate	-0.129	0.208	0.129	-0.855	-0.043	0.228	0.805	-0.893	0.501	0.369	0.145	-0.036	-0.044	0.695	0.148	1	0.986	0.283	0.813	0.500	0.108	0.188
Ethyl octanoate	-0.570	-0.593	0.570	-0.334	0.655	0.318	0.477	0.093	0.872	0.488	0.991	0.110	-0.516	0.704	0.869	0.014	1	0.740	0.125	0.691	0.761	0.437
β -Phenethyl acetate	0.293	0.505	-0.293	-0.429	-0.357	-0.357	0.933	-0.330	0.594	-0.131	0.339	0.648	0.396	0.793	0.013	0.717	0.260	1	0.354	0.038	0.179	0.497
Propyl octanoate	-0.154	-0.131	0.154	-0.257	0.224	-0.098	0.722	0.122	0.861	0.132	0.881	0.538	-0.072	0.819	0.570	0.187	0.875	0.646	1	0.277	0.883	0.695
Ethyl dodecanoate	-0.422	-0.553	0.422	0.195	0.435	0.538	-0.841	0.061	-0.535	0.314	-0.356	-0.821	-0.516	-0.708	0.050	-0.500	-0.309	-0.962	-0.723	1	0.325	0.687
Lauryl acetate	0.333	0.627	-0.333	-0.529	-0.487	-0.222	0.739	-0.659	0.240	-0.091	-0.127	0.313	0.412	0.515	-0.266	0.892	-0.239	0.821	0.117	-0.675	1	0.094

Ethyl tridecanoate	-0.302	-0.588	0.302	0.469	0.487	0.087	-0.423	0.743	0.087	0.056	0.452	-0.005	-0.345	-0.184	0.426	-0.812	0.563	-0.503	0.305	0.313	-0.906	1
--------------------	--------	--------	-------	-------	-------	-------	--------	-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	-------	--------	-------	--------	-------	-------	--------	---

5. CONCLUSÕES GERAIS

Diante dos resultados obtidos neste estudo para a cerveja artesanal de trigo com adição do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), pode-se concluir que:

- ❖ A viabilidade celular não foi afetada com a adição do fruto do mandacaru, desta forma, as alterações em relação aos produtos finais avaliados, está relacionada ao enriquecimento do mosto com o adjunto, bem como sua formação a partir do metabolismo da levedura, sem interferência no crescimento celular.
- ❖ A utilização do fruto do mandacaru, aumentou as concentrações de etanol, glicerol e ácidos orgânicos das cervejas estudadas. O aumento da acidez nas cervejas elaboradas com fruto, é associada a maior disponibilidade de carbono para formação dos ácidos orgânicos. A redução do ácido acético nas cervejas adicionadas de fruto, pode estar correlacionada com a maior formação de ésteres nestas amostras.
- ❖ O enriquecimento das cervejas com fruto do mandacaru, resultou no aumento da capacidade antioxidante e consequentemente na concentração de compostos fenólicos, especialmente no teor de procianidina B2, ácido gálico e equicatequina, confirmando o potencial bioativo do fruto utilizado, resultando no aumento da vida útil das cervejas e em propriedades benéficas à saúde.
- ❖ As cervejas com adição de fruto do mandacaru foram marcadas pela maior abundância de ésteres importantes para o perfil aromático de cervejas, como acetato de etila, acetato de fenitila e hexanoato de etila. Outros compostos voláteis, como terpenos, hidrocarbonetos, fenóis e compostos sulfurados, também foram mais abundantes em cervejas adicionadas do fruto.
- ❖ De modo geral, a cerveja C foi caracterizada pela maior concentração de compostos fenólicos (taninos, flavonoides e ácidos benzoicos), acetato de etila e acetato de fenitila e a cerveja B pela maior concentração de ácidos orgânicos e atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS.
- ❖ O fruto do mandacaru demonstrou seu potencial como adjunto cervejeiro, de modo a aprimorar a qualidade nutricional e a composição volátil das cervejas.