



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

LYS GABRIELA ALVES CORREIA LIMA

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO BIOTIVA E AROMÁTICA DE CERVEJA
ARTESANAL ELABORADA COM ADIÇÃO DE CASCA DE BETERRABA
(Beta vulgaris)

JOÃO PESSOA – PB

2022

LYS GABRIELA ALVES CORREIA LIMA

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO BIOTIVA E AROMÁTICA DE CERVEJA
ARTESANAL ELABORADA COM ADIÇÃO DE CASCA DE BETERRABA
(*Beta vulgaris*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 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

LYS GABRIELA ALVES CORREIA LIMA

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L732a Lima, Lys Gabriela Alves Correia.

Avaliação da composição biotiva e aromática de
cerveja artesanal elaborada com adição de casca de
beterraba (Beta vulgaris) / Lys Gabriela Alves Correia
Lima. - João Pessoa, 2022.

81 f. : il.

Orientação: Marcelo Barbosa Muniz.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Cerveja artesanal - Cascas de beterrabata. 2.
Cerveja suplementada - Fermentação. 3. Mosto -
Fermentação. 4. Cerveja - Atividade antioxidante. 5.
Compostos fenólicos. I. Muniz, Marcelo Barbosa. II.
Título.

UFPB/BC

CDU 663.45(043)



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Tecnologia



Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

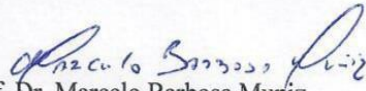
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

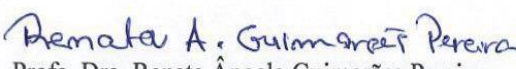
Aos vinte e oito dias do mês de setembro do ano de dois mil e vinte e dois, às 14:00, no Centro de Tecnologia da UFPB, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos professores: Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz, orientadora do trabalho e presidente da Banca, Profa. Dra. Taliana Kênia Alves Bezerra (Membro Interno/UFPB) e Profa. Dra. Renata Ângela Guimarães Pereira (Membro Externo/UFPB). A reunião teve por objetivo julgar o trabalho de dissertação da discente **Lys Gabriela Alves Correia Lima**, matrícula **20201014563**, sob o Título **“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL COM ADIÇÃO DE CASCA DE BETERRABA (*Beta vulgaris*).”** Os trabalhos foram abertos pelo Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz. Em seguida, foi concedida a palavra à discente para apresentação do trabalho. Cada Examinadora arguiu a mestrand, com tempos iguais de arguição e resposta. Terminadas as arguições, procedeu-se o julgamento do trabalho, concluindo a Banca Examinadora por sua Aprovada. Atendidas as exigências da Resolução nº 15/2019/CONSEPE que regulamentam o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, e nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente Ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela mestrand.

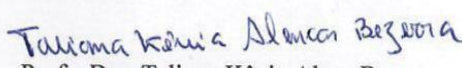
João Pessoa, 28 de setembro de 2022.

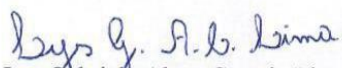
Se houver alteração no título do trabalho, informar o no título abaixo:

AVANÇADA DA COMPOSIÇÃO BIOATIVA E ANOMÁLIA
DE CERVEJA ARTESANAL ELABORADA COM ADIÇÃO
DE CASCA DE BETERRABA.


Prof. Dr. Marcelo Barbosa Muniz
Orientador e Presidente


Profa. Dra. Renata Ângela Guimarães Pereira
Membro Externo/UFPB


Profa. Dra. Taliana Kênia Alves Bezerra
Membro Interno/UFPB


Lys Gabriela Alves Correia Lima
Mestrand

AGRADECIMENTOS

Concluir o mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos é um desejo que acalentei desde a graduação em gastronomia, mas para torná-lo real foi necessário muito esforço, determinação, paciência, perseverança e ousadia. Nada disso conseguiria sozinha, minha eterna gratidão a todos aqueles que colaboraram para que esse sonho se concretizasse.

Grata a Deus pelo dom da vida e por ter me capacitado e guiado neste caminho, pelo amor e cuidado diário, sem ele nada seria possível.

Agradeço a meus pais Lúcia e Vilberto, meus maiores exemplos. Obrigada por cada incentivo, orientação, preocupação e dedicação, prova do amor maior que nutrem por mim.

Agradeço aos meus irmãos Ivy, Illy e Lucas pela amizade, incentivo, colaboração e compreensão nos momentos de ausência. Em especial a Lucas por ter dedicados tantos momentos com o intuito de me ajudar a concluir esse trabalho.

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 no decorrer desta pesquisa.

À meus amigos que dividiram comigo a vida acadêmica Luisa, Nathaly, Karinne, Djalma, Flávia, Isis e Renato com quem pude compartilhar tantos momentos bons e ruins, sempre atentos a ouvir, apoiar, incentivar e aconselhar. Em especial agradeço à Milena, por toda preocupação, paciência, incentivo e apoio emocional durante todas as etapas, não apenas deste trabalho como também da minha vida.

Agradeço também aos colegas do grupo de pesquisa que auxiliaram e foram essenciais no desenvolvimento deste trabalho: Renato, Givanildo, Rayane, Raquel, Ayrton, Izabel, Agaíldes e Matheus, obrigado por toda ajuda e apoio.

Agradeço em especial a banca examinadora composta pela Prof^a Dr^a Taliana Kênia Alves Bezerra e a Prof^a Dr^a Renata Ângela Guimarães Mishina, 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 que fizeram parte da minha formação acadêmica, especialmente ao Prof. Dr. Normando Ribeiro Filho pela disponibilidade, escuta, paciência e auxílio nesta fase final.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse sonho, meus sinceros agradecimentos, jamais conseguiria sozinha

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

OBRIGADA!

RESUMO

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no mundo, sendo o ramo das cervejas artesanais destaque em função da diversidade de estilos e matérias-primas que podem potencializar as características funcionais e antioxidantes do produto. Neste sentido, a procura por diferenciação e diminuição de custos de produção fez com que as cervejarias buscassem novas fontes de carboidratos que conferem ao produto diferentes características sensoriais, maior vida de prateleira por conter compostos bioativos. Deste modo, o presente estudo elaborou uma cerveja artesanal estilo *Belgian blond ale* com adição de diferentes percentuais da casca de beterraba (*Beta vulgaris*), um adjunto rico em açúcares fermentáveis, minerais e compostos antioxidantes, sendo um alternativa promissora para utilização em cervejarias artesanais buscando conferir complexidade aromática e aumento das propriedades bioativas da bebida, bem como sua aplicação tem baixo custo, por se tratar de um resíduo de produção alimentar. O objetivo deste trabalho foi elaborar e analisar a influência das cascas de beterraba na formação de compostos fenólicos, perfil volátil e capacidade antioxidante da cerveja suplementada com cascas de beterraba. Foram elaborados mostos suplementados com cascas de beterraba utilizando 4 tratamentos, incluindo um controle, B1 (100g/L), B2 (150g/L) e B3 (200g/L), calculados de acordo com o volume do mosto. As fermentações foram conduzidas 11 dias a 18°C, maturadas à 3°C por 15 dias e engarrafadas (7 g de sacarose por garrafa) a 20°C por 15 dias. As cervejas foram avaliadas por HPLC (etanol, glicerol, ácidos orgânicos e compostos fenólicos), GC-MS (compostos voláteis) e a atividade antioxidante. Os resultados corroboram que a adição do adjunto no mosto aumentou a complexidade do perfil volátil da cerveja, a composição fenólica e atividade antioxidante. As cervejas suplementadas com adjunto foram influenciadas com relação a produção de etanol. Cerveja B2 (61,6 g/L) e cerveja B3 (60,3 g/L) aumentou significativamente o teor de etanol ($p < 0,05$). A amostra B1 (54,5 g/L) conteve uma concentração de etanol menor do que P (56,5 g/L, controle), porém não demonstraram nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$). Em contrapartida, a amostra B1 apresentou maior significância ($p < 0,05$) formação de glicerol (4,0 g/L) entre todas as amostras avaliadas. A amostra B2 gerou uma menor concentração de glicerol (3,2 g/L) ($p < 0,05$). Embora na amostra B3 tenha sido suplementada com maior quantidade de adjunto (200 g/L), apresentou concentração de glicerol semelhante (3,5 g/L) ao controle (P). A suplementação do mosto com cascas de beterraba influenciou na formação dos ácidos orgânicos, quando comparada com a amostra P (7,1 g/L), que contém o menor teor de ácidos orgânicos, amostras B1 (9,4g/L), B2 (8,2 g/L) e B3 (8,5 g/L) apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) de ácidos orgânicos. Cinquenta e sete compostos voláteis foram identificados por GC-MS em todas as formulações de mosto, mais abundantes em cervejas adicionadas de casca de beterraba, incluindo alguns ésteres importantes para caracterização aromática de cervejas, acetato de isoamila, decanoato de etila, 2-metil-1-butanol, o acetato de γ -fenetil foi mais abundante na cerveja controle. Outros grupos de compostos voláteis como terpenos, hidrocarbonetos, fenóis e compostos sulfurados foram mais abundantes em cervejas adicionadas do adjunto. A suplementação de cascas de beterraba nas cervejas obteve impacto positivo com relação a atividade antioxidante, avaliadas pelos métodos de DPPH e ABTS e no teor de compostos fenólicos, Quando aplicado o método ABTS+• a maior atividade antioxidante foi observada na amostra B3 (24,50 mmol TEAC/L). No entanto, no método DPPH foi observado, amostras B2 (12,25 mmol TEAC/L) e B3 (12,30 mmol TEAC/L) apresentadas a maior atividade antioxidante. Foram identificados dezenove compostos fenólicos do grupo dos flavonóides, taninos, ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos e estilbenos foram identificados (Fig. 4B). A amostra B3 apresentou o maior teor significativo de flavonóides e estilbenos ($p < 0,05$). Em contraste, um maior teor de tanino e ácidos cinâmicos identificados na amostra P ($p < 0,05$). Além disso, a amostra P (controle) apresentou a menor

concentração de ácido siríngico, cumárico e ácido cafeico; no entanto, quando o mosto foi suplementado com adjunto, o teor desses compostos aumentou significativamente. Os resultados deste estudo sugerem que a adição de cascas de beterraba resultou no aumento da concentração de etanol e ácidos orgânicos e aromas das cervejas, bem como reduziu a formação de glicerol. A suplementação do adjunto ampliou a atividade antioxidante e composição fenólica, potencializando, as características bioativas da bebida. Desse modo, a utilização do adjunto 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, mosto, cascas de beterraba, voláteis, compostos fenólicos, antioxidante

ABSTRACT

Beer is the most consumed alcoholic beverage in the world, and the craft beer sector is highlighted due to the diversity of styles and raw materials that can enhance the functional and antioxidant characteristics of the product. In this sense, the search for differentiation and reduction of production costs made breweries look for new sources of carbohydrates that give the product different sensory characteristics, longer shelf life for containing bioactive compounds. In this way, the present study elaborated a Belgian blond ale style craft beer with the addition of different percentages of beet husk (*Beta vulgaris*), an adjunct rich in fermentable sugars, minerals and antioxidant compounds, being a promising alternative for use in craft breweries seeking confer aromatic complexity and increase the bioactive properties of the beverage, as well as its application has low cost, as it is a residue of food production. The objective of this work was to elaborate and analyze the influence of beetroot skins on the formation of phenolic compounds, volatile profile and antioxidant capacity of beer supplemented with beetroot skins. Musts supplemented with beet husks were prepared using 4 treatments, including a control, B1 (100g/L), B2 (150g/L) and B3 (200g/L), calculated according to the volume of the must. Fermentations were carried out for 11 days at 18°C, aged at 3°C for 15 days and bottled (7 g sucrose per bottle) at 20°C for 15 days. The beers were evaluated by HPLC (ethanol, glycerol, organic acids and phenolic compounds), GC-MS (volatile compounds) and antioxidant activity. The results corroborate that the addition of the adjunct to the wort increased the complexity of the beer's volatile profile, the phenolic composition and antioxidant activity. The adjunct-supplemented beers were influenced with respect to ethanol production. Beer B2 (61.6 g/L) and beer B3 (60.3 g/L) significantly increased the ethanol content ($p < 0.05$). Sample B1 (54.5 g/L) contained an ethanol concentration lower than P (56.5 g/L, control), but showed no significant difference ($p < 0.05$). On the other hand, sample B1 showed the greatest significance ($p < 0.05$) of glycerol formation (4.0 g/L) among all samples evaluated. Sample B2 generated a lower concentration of glycerol (3.2 g/L) ($p < 0.05$). Although sample B3 was supplemented with a greater amount of adjunct (200 g/L), it had a similar glycerol concentration (3.5 g/L) to the control (P). Must supplementation with beet husks influenced the formation of organic acids, when compared to sample P (7.1 g/L), which contains the lowest content of organic acids, samples B1 (9.4 g/L), B2 (8.2 g/L) and B3 (8.5 g/L) showed a significant increase ($p < 0.05$) of organic acids. Fifty-seven volatile compounds were identified by GC-MS in all wort formulations, most abundant in beers added with beet husk, including some important esters for aromatic characterization of beers, isoamyl acetate, ethyl decanoate, 2-methyl- 1-butanol, γ -phenethyl acetate was 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 with the adjunct. The supplementation of beet husks in beers had a positive impact on antioxidant activity, evaluated by the DPPH and ABTS methods and on the content of phenolic compounds. When the ABTS+• method was applied, the highest antioxidant activity was observed in sample B3 (24.50 mmol TEAC/L). However, in the DPPH method, samples B2 (12.25 mmol TEAC/L) and B3 (12.30 mmol TEAC/L) presented the highest antioxidant activity. Nineteen phenolic compounds from the group of flavonoids, tannins, benzoic acids, cinnamic acids and stilbenes were identified (Fig. 4B). Sample B3 had the highest significant content of flavonoids and stilbenes ($p < 0.05$). In contrast, a higher content of tannin and cinnamic acids identified in sample P ($p < 0.05$). In addition, sample P (control) had the lowest concentration of syringic acid, coumaric and caffeic acid; however, when the wort was supplemented with adjunct, the content of these compounds increased significantly. The results of this study suggest that the addition of beet husks resulted in an increase in the concentration of ethanol and organic acids and aromas of the beers, as well

as reduced the formation of glycerol. Supplementation of the adjunct increased the antioxidant activity and phenolic composition, enhancing the bioactive characteristics of the beverage. Thus, the use of the adjunct 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: Beer, wort, beet husks, volatiles, phenolic compounds, antioxidante.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma genérico da produção de cerveja	21
Figura 2 - Cascas de beterraba.....	32
Figura 3 - Fluxograma de produção de cerveja com casca de beterraba.....	34
Figura 4 - Maltes moídos utilizados na fabricação da cerveja com adição de cascas de beterraba	35
Figura 5 - Teste de iodo para verificação de hidrólise do amido	35
Figura 6 - Variação de temperatura em função do tempo na mosturação empregada na cerveja com adição de cascas de beterraba	36
Figura 7 - Filtração do mosto da cerveja com adição de casca de beterraba.....	36
Figura 8 - Fervura do mosto da cerveja com adição das cascas de beterraba	37

ARTIGO

Fig. 1. Final yeast viability (%) obtained from treatments evaluated including of control beer (■), Beer B1 (□), Beer B2 (▨) and Beer B3 (■). Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3). Different lower case letters indicate a significant difference ($p < 0.05$) for viability according to the Tukey test.	55
Fig. 2. Relative difference (to control beer) for Beer B1 (■), Beer B2 (□) and Beer B3 (▨), in the production of: ethanol and glycerol (A); and 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 ($p < 0.05$)......	56
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 B1, Beer B2, and Beer B3.....	58
Fig. 4. A) Relative difference (to control beer) for B1 (■), Beer B2 (□) and Beer B3 (▨), for the antioxidant activity evaluated by the DPPH and ABTS methods, and the sum of phenolic compounds; B) A heat graph for explaining phenolic compounds contents including flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, tannins and stilbenes 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 ($p < 0.05$)...... 60

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 beet peels/L), (100 g of beet peels/L), Beer B (150 g of beet peels/L) e Beer C (200 g of beet peels/L)...... 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Matérias-primas utilizada na fabricação de cerveja com casca de beterraba32

Tabela 2 - Formulações das cervejas com adição de cascas de beterraba 33

ARTIGO

Table S1. Ethanol, glycerol and organic acids obtained from treatments evaluated including Beer P (control), Beer A (100 g of beet peel/L), Beer B (150 g of beet peel/L), and Beer C (200 g of beet peel/L)..... 71

Table S2. Abundance relative (% of total area) of volatile compounds identified by HS-SPME-GC-MS method. Treatments evaluated are Beer P (control), Beer B1 (100 g of beet peel/L), Beer B2 (150 g of beet peel/L), and Beer B3 (200 g of beet peel/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation. 72

Table S3. Antioxidant activity obtained from treatments evaluated including Beer P (control), Beer A (100 g of beet peel/L), Beer B (150 g of beet peel/L), and Beer C (200 g of beet peel/L). 75

Table S4. Phenolic profile of control beer and in the beers produced with 100 g/L (Beer B1), 150 g/L (Beer B2) and 200 g/L (Beer B3) of beet peel. All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation. 76

Table S5. Correlation matrix (Pearson (n)) among volatile compounds 77

Table S6. Correlation matrix (Pearson (n)) among phenolic compounds 79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
ACDH	Acetaldehyde Dehydrogenase
A _w	Atividade de água
BJCP	<i>Beer Judge Certification Program</i>
BP	Beet Peel
CATA	<i>Check-All-That-Apply</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
GC-MS	Gas Chromatography Mass Spectrometry
GEA	Equivalente de Ácido Gálico
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
NIST	<i>National Institute of Standards & Technology</i>
PCA	Principal Component Analysis
PIB	Produto Interno Bruto
SPME	Solid Phase Micro-Extraction
SV	Standardization Value
TCA	Tricarboxylic Acid
TEAC	Capacidade Antioxidante Equivalente Trolox
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 ORIGEM DA CERVEJA	18
2.2 MERCADO CERVEJEIRO	19
2.3 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA CERVEJA	21
2.3.1 Moagem	22
2.3.2 Mosturação.....	22
2.3.3 Filtração e Lavagem.....	22
2.3.4 Fervura.....	23
2.3.5 Resfriamento do mosto	23
2.3.6 Aeração do mosto	24
2.3.7 Fermentação	24
2.3.8 Maturação.....	24
2.3.9 Envase	25
2.4 MATÉRIAS-PRIMAS	25
2.4.1 Água.....	25
2.4.2 Malte.....	26
2.4.3 Lúpulo	26
2.4.4 Leveduras.....	27
2.4.5 Adjuntos	28
2.5 SUB- PRODUTO DE BETERRABA	29
2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM CERVEJAS	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 MATERIAL	31
3.2 MÉTODOS.....	31
3.2.1 Processamento das cascas de beterraba	31
3.2.2 Formulações da cerveja com adição de cascas de beterraba.....	32
3.2.3 Preparação das cervejas com adição de casca de beterraba	33
3.2.4 Determinação da viabilidade celular	38
3.2.5 Determinação da capacidade antioxidante das cervejas.....	38

3.2.5.1 Método de sequestro de radicais livres ABTS* (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)	38
3.2.5.2 Método de sequestro de radicais livres DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidrazila).....	38
3.2.6 Perfil de etanol, glicerol, ácidos orgânicos e compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE.....	39
3.2.6.1 Preparo da amostra	39
3.2.6.2 Separação e identificação do etanol e glicerol	39
3.2.6.3 Separação e identificação dos ácidos orgânicos e açúcares	39
3.2.6.4 Separação e identificação dos compostos fenólicos.....	40
3.2.7 Perfil aromático das cervejas	40
3.2.8 Análise estatística	41
REFERÊNCIAS	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	47
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	81

1. INTRODUÇÃO

Na atualidade a cerveja é uma bebida verdadeiramente internacional, produzida e comercializada globalmente, caracteriza-se por ser uma mistura complexa de compostos derivados de matérias-primas e metabólitos produzidos durante a fermentação alcoólica de levedura do *wort* cervejeiro, que é composto de malte de cevada, água e lúpulo (SEO *et.al.*, 2020). As diferentes combinações de ingredientes e processos de fabricação produzem um produto quimicamente complexo, que apresenta distintos tipos e estilos, influenciados por fatores como origem, história, cultura, matérias-primas, processos de produção e fermentação (MOURA-NUNES *et. al.*, 2016).

A cerveja é a bebida mais consumida do mundo e ocupa o terceiro lugar geral após água e chá. No Brasil, em 2018 foram produzidos 14.137.900 bilhões de litros de cerveja, sendo 1,25 bilhão de litros consumidos no mercado interno, o que representou 7,4% da produção mundial de cerveja e 6,7% do consumo no mercado global de cerveja (KIRIN BEER UNIVERSITY REPORT, 2019).

De acordo com Brasil (2021), existem cervejarias em todas as unidades da federação, em comparação com o ano anterior ocorreu um aumento de 14,4% totalizando 1.383 registradas no MAPA- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Grande parte desse aumento na quantidade de empresas no país se deve as cervejarias artesanais. Essas cervejarias se destacam por produzirem rótulos que contém em sua composição ingredientes nobres e diferenciados, tendo como principal objetivo formulações equilibradas que visam a qualidade do produto final.

Dentre os ingredientes têm-se a adição de adjunto fermentável, como vegetais, no processo de fabricação, que confere ao produto atributos sensoriais e funcionais. O emprego da casca da beterraba (*Beta vulgaris*) no processo biotecnológico da cerveja, configura-se uma alternativa para incentivar a utilização de resíduos vegetais, adicionando ao produto formulado características sensoriais diferenciadas, além de possuir grande importância pelo potencial do subproduto devido ao conteúdo de biocomponentes, que podem ser usados para a produção de alimentos inovadores (ABELLÁN *et. al.*, 2021).

A utilização de subprodutos vegetais como fonte de compostos de alto valor como fibras, antioxidantes, vitaminas e minerais, levou à exploração de métodos de extraí-los e aplica-los como ingredientes funcionais saudáveis em produtos alimentícios. Nesse sentido, a elaboração de alimentos com adição de extratos naturais contendo fitoquímicos de alto valor biológico como polifenóis e betalainas, obtidos a partir de resíduos do processamento de

beterrabas, é uma excelente alternativa para aumentar sua qualidade nutricional e agregar valor aos recursos subutilizados (FERNANDEZ *et. al.*, 2020).

A expansão de cervejas funcionais ocorre pela demanda de clientes preocupados com a saúde, mas que apreciam cerveja e busca valor agregado a bebida. A possibilidade de inserção de adjuntos a bebida como ervas, vegetais, frutas, especiarias e outros compostos como resíduos de processamento de alimentos resultam em produtos inovadores que combinam ingredientes novos e benéficos a saúde (HABSCHIED, *et. al.*, 2020).

A atividade antioxidante da cerveja é um fator relevante na determinação de sua qualidade nutricional. Foi relatado que o consumo de cerveja aumenta as atividades antioxidantes e anticoagulantes plasmáticos e afeta positivamente os níveis lipídicos plasmáticos em humanos. Além disso, tem sido relatado que o consumo moderado de cerveja exerce efeitos protetores no fator de risco cardiovascular (NARDINI *et. al.*, 2020).

Desenvolver cervejas diferenciadas com maior valor nutricional e presença de antioxidantes pode contribuir com a utilização de resíduos vegetais de alto valor nutricional que seriam descartados. O estilo de cerveja *Belgian Blond Ale* apresenta intensidade moderada, complexidade sutil frutada-picante derivada da levedura belga, com sabor discreto de malte doce e um final seco. O aroma de lúpulo é ligeiramente terroso o que harmoniza com o sabor e aroma terroso marcante das cascas de beterraba. Apresenta um caráter derivado da fermentação suave que pode incluir compostos fenólicos condimentados, álcool perfumado ou como mel, levedura e ésteres frutados (geralmente como laranja ou limão) e seu amargor é médio (BJCP, 2015).

Considerando a composição nutricional das cascas de beterraba e sua riqueza em compostos antioxidantes este trabalho teve por objetivo desenvolver uma cerveja artesanal *Belgian Blond Ale* com adição da casca de beterraba (*Beta vulgaris*), avaliando sua bioatividade, composição volátil, bem como sua influência na produção de etanol, glicerol, ácidos orgânicos na cerveja produzida.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ORIGEM DA CERVEJA

Na literatura existem diversas evidências sobre a origem da cerveja, porém, o local exato ainda é indeterminado. No entanto, a evidência mais relevante, é que ela teve origem por volta

de 6000 a.C. na Mesopotâmia, onde a cevada era imersa em água para germinação e utilizada para elaboração de pães, que eram colocados de molho em jaras para fermentar de maneira espontânea por leveduras selvagens. Como resultado da fermentação os egípcios desfrutavam da fabricação do pão e de uma bebida alcoólica análoga à cerveja, levando à acreditar que sua descoberta se deu por acaso, a partir da fabricação do pão por padeiros da época. Essa bebida era distribuída para a população e consumida 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. Desde a antiguidade até os dias atuais a tecnologia de produção de cerveja foi passando por adaptações no modo de fabricação. Estas adaptações são influenciadas pela região onde o produto é elaborado, além de padrões sociais que interferem historicamente a tecnologia de fabricação de cerveja (OLIVEIRA, 2017; VENTURINI FILHO, 2016;).

No final da era romana, os mosteiros desempenharam um papel importante na tecnologia de fabricação de cerveja, pois foram os principais centros de produção, distribuição e inovação. Neles bebidas com qualidades distintas eram produzidas com a finalidade de atender as diferentes classes da sociedade. Na região da Alemanha, há vestígios inovação na produção de bebidas, como a inclusão de lúpulo como componente por volta de 822 D.C (POELMANS & SWINNEN, 2011).

A revolução industrial teve papel importante na popularização desta bebida, pois a utilização de máquinas e equipamentos permitiram sua massificação, bem como a padronização do produto e preço em escala mundial. Diante disso, a cerveja tornou-se a bebida mais consumida mundialmente, sofrendo diversas transformações e aprimoramento ao longo do tempo, para enfim alcançar a tecnologia de processamento atual (ROSA; AFONSO, 2015; VENTURINI FILHO, 2016; OLIVEIRA, 2017).

2.2 MERCADO CERVEJEIRO

De acordo com estudo realizado pela Associação Brasileira da Indústria da Cerveja (CERVBRASIL) em parceria com o Ministério Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em 2020 o Brasil registou 174 novas cervejarias, obtendo um aumento de 14,4% em relação ao ano de 2019. A região Sul e Sudeste destaca-se na concentração de fábricas no Brasil (CERVBRASIL, 2020).

O registro de microcervejarias no Brasil de acordo com o MAPA (2021), tem crescido de maneira exponencial nos últimos anos. O país possui cervejarias registradas em todas as unidades da federação, totalizando 1383 unidades. As regiões Sudeste, Sul e Nordeste se destacam no crescimento de registros de cervejarias em 2020, Piauí 200%, Rio Grande do Norte 57,4% e Paraíba 60% de registros a mais que o ano anterior.

Atualmente o Brasil possui 33.963 produtos registrados pelo MAPA as regiões Sul e Sudeste lideram o registro total de produtos este dado acompanha a concentração de cervejarias nessas regiões, em 2020 tem-se a média de 24 registros de produto por cervejaria (MAPA, 2021).

Na produção mundial de cerveja o Brasil fica atrás apenas dos Estados Unidos e China, sendo o terceiro maior produtor da bebida, com uma estimativa de fabricação 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, retratando o crescimento expressivo deste setor (CERVBRASIL, 2020).

O mercado cervejeiro brasileiro se fragmenta em dois grandes segmentos, empresas de grande e as pequeno porte. As grandes empresas, são representadas pela indústria que de modo geral abrangem todo território nacional, devido ao enorme volume de produção. Em contrapartida, as pequenas empresas atendem um nicho de mercado específico, representado pelas cervejarias artesanais e microcervejarias. A cerveja artesanal tem como diferencial sua fabricação em cervejarias de pequeno porte, utilizando ingredientes especiais, produzindo cervejas de qualidade superior, em termos de sabor, aroma, cor e uma variedade de estilos (VIANA *et al.*, 2021).

As cervejas artesanais são produzidas em pequena escala através de um processo de fermentação mais lento em comparação com as cervejas tradicionais (BREWERS ASSOCIATION, 2017). Além de focar em diferenciação, os fabricantes de cerveja artesanais estão comprometidos com a inovação de produtos. Eles interpretam estilos com inovações únicas e desenvolvem fórmulas exclusivas. Assim, um dos os principais fatores que distinguem as cervejas artesanais de cervejas tradicionais são os vários tipos de cerveja cuidadosamente desenvolvidas, dando um melhor aroma e sabor à bebida (KLEBAN E NICKERSON, 2012; BREWERS ASSOCIATION, 2017).

O interesse por cervejas artesanais tem crescido nos últimos anos, pois os consumidores têm buscado produtos de alta qualidade, inovadores e com estilos diferenciados. Uma definição de cerveja artesanal oficial é difícil devido à grande quantidade de definições legais e tributárias entre os países. Alguns autores definem as cervejas

artesanais como produtos que possuem características sensoriais inovadoras, conseguidas através da utilização de ingredientes novos que proporcionam ao produto aromas e sabores ousados, bem como ampla diversidade de estilos (MASCIA, *et. al.*, 2016).

As microcervejarias reinterpretam estilos tradicionais de cerveja adotando combinações de cereais maltados, alterando a quantidade e qualidade, novas variedades de lúpulos e até mesmo frutas, vegetais, especiarias e matérias-primas modernas buscando aromas e sabores variados. Consequentemente as cervejas artesanais atraem os consumidores por sua qualidade e inovação que estão dispostos a desembolsar um valor maior pelo produto, se comparado as cervejas industrializadas.

Desta maneira, o desenvolvimento deste segmento da indústria cervejeira é possível por não representar concorrência direta com as grandes marcas. As cervejarias artesanais atendem a um nicho específico, formado por consumidores sofisticados e dispostos a pagar preços acima do mercado convencional pelos produtos diferenciados.

2.3 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DA CERVEJA

A cerveja se trata de uma bebida de alta complexidade por apresentar reações químicas e bioquímicas no processo de fabricação, porém sua fabricação é relativamente simples. Venturini (2010), divide esse processo em três etapas principais. São elas:

- Produção do mosto: nesta fase ocorre a moagem do malte, mosturação, filtração, fervura e clarificação;
- Processo fermentativo: acontece a fermentação e maturação da cerveja;
- Pós-tratamento da cerveja: por fim realiza-se a filtração, envase, carbonatação, modificações de aroma e sabor, pasteurização.

O fluxograma da Figura 1, representa o processo de fabricação da cerveja de maneira genérica conforme descrito por Venturini (2010).

Figura 1 - Fluxograma genérico da produção de cerveja



Fonte: Autor (2021)

2.3.1 Moagem

O malte deve ser moído com a finalidade de reduzir o grão de maneira uniforme, expondo o endosperma do grão, assim obtêm-se uma melhor atuação enzimática devido ao aumento da área superficial, porém nessa moagem a produção de farinha fina deve ser mínima para não causar lentidão na filtração do mosto devido ao excesso de material mucilaginoso (AQUARONE et al., 2001).

2.3.2 Mosturação

A etapa da brasagem ou mosturação é onde ocorre a mistura dos grãos de malte triturados com a água, em temperatura controlada, nesta fase são solubilizadas as substâncias do malte e a ativação das enzimas que vão hidrolisar o amido presente no grão, bem como a extração dos açúcares que serão essenciais para a fermentação da cerveja. Nesta fase deve ocorrer o controle rigoroso do tempo, da temperatura para não ultrapassar 75°C para que as enzimas não sejam inativadas, o pH deve ser mantido no ideal entre 5,1 e 5,7, pois é onde acontece a ativação das enzimas transformando-as em açúcares fermentáveis e as proteínas são convertidas em nutrientes. 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; STEWART, 2016).

2.3.3 Filtração e Lavagem

Ao final da mosturação, o mosto deve ser separado da parte sólida insolúvel da massa que é composta pela casca de malte, fragmentos da camada de aleurona, plúmula, restos de parede celular e proteína coagulada. Esses sólidos formarão o leito de filtração (ou torta de filtro), pelo qual o mosto será separado. Os resíduos da casca do malte, depositados no fundo da panela ainda contém grande quantidade de açúcares retidos, a fim de evitar desperdícios e aumentar o rendimento faz-se necessário uma segunda e até terceira lavagem com água aquecida a 75°C (HARRISON; ALBANESE, 2017).

2.3.4 Fervura

Essa etapa do processo tem o objetivo de conferir ao mosto estabilidade biológica, bioquímica e coloidal. Além disso, é responsável pela evolução de sabores proporcionando o desenvolvimento de cor, aroma e concentração de extrato (AQUARONE et al., 2001). A fervura leva entre 60-120 minutos e 100°C tendo como ponto de controle a densidade desejada do mosto. Nesta etapa adiciona-se o lúpulo de amargor no início, para a isomerização de α -ácidos assim fixando o amargor, e o de aroma ao fim para evitar a perda de compostos voláteis (HARRISON; ALBANESE, 2017).

Geralmente, nos últimos 15 minutos de fervura, é acrescentado um aditivo floculante ao mosto para ajudar na decantação de proteínas e sua interação com taninos de alto peso molecular, que irão colaborar na clarificação do mosto fervido. Após a finalização da fervura deve ser realizado o *whirlpool*, procedimento que fará com que todos os sólidos em suspensão sejam atraídos para o fundo e para o centro da panela criando uma “torta” chamada de *trub* quente, o qual não deve ser enviado aos fermentadores sob pena de acarretar um sabor desagradável de grama verde ao produto final, além disso, pode prejudicar a fermentação, baixando a eficiência do levedo (VENTURINI, 2016).

2.3.5 Resfriamento do mosto

O processo de resfriamento tem como objetivo diminuir a temperatura do mosto para evitar a oxidação e contaminação por micro-organismos indesejáveis, bem como, chegar à temperatura ideal de inoculação das leveduras, por isso, o resfriamento deve ser concluído no menor tempo possível, recomendando-se no máximo, 60 minutos. Esse processo também contribui para a eliminação de componentes do mosto que podem causar turbidez na cerveja, através de sua precipitação (STEWART, 2016).

2.3.6 Aeração do mosto

A aeração do mosto é necessária antes da inoculação do fermento, pois o crescimento da levedura cervejeira acontece através de metabolismo oxidativo (respiração). O oxigênio também é necessário pelas células do fermento para a síntese de ácidos graxos insaturados e esteróis, componentes das membranas intracelulares. (AQUARONE et al., 2001).

2.3.7 Fermentação

Na fermentação ocorre a conversão de açúcares simples em etanol, gás carbônico e outros compostos responsáveis por definir os aromas e sabores da cerveja por meio da ação das leveduras. A fermentação tem início após a adição de fermento ao mosto, a quantidade usada para inoculação varia de acordo com o teor de extrato, composição, nível de aeração e temperatura do mosto cervejeiro (STWEART, 2016).

O processo, de modo geral, ocorre a 18°C para leveduras de alta fermentação e é ideal manter de cinco a sete dias nessa temperatura. Durante a fermentação é necessário acompanhar os valores da densidade final planejada, pois à medida que as leveduras vão convertendo os açúcares em gás carbônico e álcool, este valor é reduzido. Este controle é importante para identificar quando a fermentação termina, portanto, deve ser observada diariamente (VENTURINI, 2016).

2.3.8 Maturação

A etapa seguinte a fermentação é a maturação que tem o objetivo de aperfeiçoar as características sensoriais da cerveja, sendo o tempo e temperatura desse processo determinados pelo estilo da cerveja. Nesta etapa, ocorrem modificações desejáveis no aroma e sabor da cerveja devido a formação de alguns ésteres e álcoois, bem como a diminuição das concentrações de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico. Este período pode durar de dez dias a meses, com temperaturas variando de 0 a 15°C, dependendo dos resultados esperados para cada estilo (BEKATOROU, 2016; HARRISON; ALBANESE, 2017).

2.3.9 Envase

A cerveja artesanal pode ser envasada em garrafas ou barris. A carbonatação, na maioria das vezes, ocorre por refermentação nas garrafas, sendo o *priming*, o processo mais conhecido. Este consiste na adição de quantidade previamente calculada de açúcar fermentescível em cada garrafa e o posterior enchimento com a bebida ainda não carbonatada. Após o fechamento da garrafa, a cerveja sofrerá uma segunda fermentação, carbonatando-a. Durante esse processo que dura de sete a dez dias, a cerveja deve ser mantida à temperatura de fermentação, evitando a hibernação da levedura (WOLFGANG, 2004).

2.4 MATÉRIAS-PRIMAS

De acordo com a Lei da Pureza da Cerveja alemã, as cervejas devem conter somente malte de cevada, lúpulo, água e levedo. Porém por se tratar de uma bebida versátil, ela permite muitas variações com relação aos ingredientes utilizados, a proporção entre eles, grau de maltagem do cereal, tipo de lúpulo, tipo de fermentação, temperatura e a duração das etapas do processo, formas de armazenamento e envase. Em decorrência dessa pluralidade de modos de elaboração e insumos, inúmeras combinações desses fatores determinam a diversidade de estilos e amplo resultado (MORADO, 2009).

2.4.1 Água

A água é considerada um dos principais ingredientes para obtenção de uma boa cerveja, pois corresponde a aproximadamente 96% de seu peso (PALMER et. al, 2013). Além disso, para produzir um litro de cerveja são utilizados de cinco a vinte litros de água para a fabricação, higienização e até mesmo na pasteurização (MORADO, 2011).

Os parâmetros físico-químicos da água que influenciam na produção de cerveja são o pH desejável entre a faixa de 6,5 a 7,0, pois a água muito alcalina pode dissolver compostos contidos no malte e na casca do malte, indesejáveis ao processamento da cerveja. Fatores como a concentração de minerais também influenciam na produção da cerveja de qualidade como zinco (concentrações abaixo de 0,6 mg/L, contribuem na síntese de proteínas, estimulando assim o crescimento das leveduras e otimizando processo de fermentação) e o ferro (concentrações superiores a 0,3 mg/L, são responsáveis pelo escurecimento da espuma, diminuição da estabilidade coloidal e age como catalisador da oxidação (ALVES, 2013).

2.4.2 Malte

O malte é definido como o grão de cereal que passou pelo processo de maltagem que se caracteriza pela germinação, sob condições controladas, de qualquer cereal (VENTURINI, 2016). Existe uma grande variedade de malte no mercado, e quando não for de cevada deve ser acompanhado do nome do cereal utilizado como matéria-prima da maltagem, como malte de trigo, por exemplo. Quando a palavra malte não é acompanhada de alguma denominação, entende-se por ser malte de cevada (VIROLI, *et al.* 2014). De acordo com a legislação brasileira, para ser considerado cerveja, o produto deve conter o mínimo de 20% de malte de cevada em sua composição (BRASIL, 2019).

A composição química do malte deve ser considerada como indicador de qualidade, uma vez que as concentrações de carboidratos, enzimas, minerais, ácidos graxos e aminoácidos são necessários para o metabolismo das leveduras e a produção de compostos de aroma e sabor (TANG *et al.*, 2017; SHOPSKA *et al.*, 2019).

O processo de maltagem ocorre após a colheita da cevada, onde o grão é colocado de molho em água pura durante alguns dias para amolecer. Em seguida, drena-se a água e coloca-se para germinar à temperatura de 15 °C. Durante essa fase do processo de germinação, os grãos são revolvidos e ventilados de seis a doze horas, para evitar que grudem. Segue-se o brotamento do malte verde, no qual as enzimas liberadas convertem o amido dos grãos em açúcar. Após isso, o malte verde é seco em estufas com ar quente (SANTOS; DINHAM; ADAMS, 2013).

Esse processo de secagem é essencial pois, determina a cor (quanto mais torrado o malte, mais escura a cerveja), o aroma e algumas outras características que são importantes no produto final. A escolha do malte permite ao cervejeiro uma grande variedade de combinações, sendo comum o uso de mais de um tipo de malte na sua fabricação de cervejas (MORADO, 2009).

2.4.3 Lúpulo

O lúpulo é a flor fêmea da planta trepadeira da família das canabáceas (*Humulus lupulus*), geralmente cultivada em climas frios do hemisfério norte. (SANTOS; DINHAM; ADAMS, 2013). O lúpulo como ingrediente na produção de cerveja confere aroma, amargor e estabilidade coloidal à espuma, além de atuar como antioxidante e antimicrobiano (DURELLO, 2019). O lúpulo é composto por polifenóis, óleos essenciais dois tipos de resinas, a rígida e flexível, sendo a última a mais importante para a indústria cervejeira por conter α -ácidos (5-11%), β -ácidos (5-11%) e uma série de produtos polimerizados e oxidados. O sabor amargo

característico do lúpulo tem origem nos α -ácidos (humulonas), os quais são utilizados como padrão de qualidade e caracterização do lúpulo. Os β -ácidos oferecem as mesmas características dos α -ácidos porém mais suaves (STEWART, 2016).

O lúpulo pode ser comercializado em flores (secas), extrato ou mais comumente na forma de pellets, que são as flores processadas e prensadas para facilitar o transporte, diminuir o volume e concentrar os componentes, além de evitar a volatilização e oxidação dos óleos. Para extrair o sabor e aroma do lúpulo, este é adicionado ao final da fervura (evitando que estes sejam perdidos por evaporação) ou após a cerveja já ter sido fermentada (NACHEL; ETTLINGER, 2013).

O uso do lúpulo na produção cervejeira é comum desde o século IX, e apesar de seu amargor e efeito inebriante, ele foi adotado por causa de suas propriedades conservantes. Como o processo não era controlado, em meses de altas temperaturas o produto se tornava mais perecível devido à aceleração da atividade dos microrganismos (MORADO, 2009).

2.4.4 Leveduras

Os microrganismos responsáveis pela fermentação alcoólica nas cervejas são as leveduras, as quais convertem o açúcar presente no substrato em etanol e dióxido carbono. Na fermentação de cervejas duas espécies de levedura se destacam, produzindo diferentes estilos da bebida, a *Saccharomyces cerevisiae*, usada em cervejas de alta fermentação, e *Saccharomyces carlsbergensis*, usadas em cervejas de baixa fermentação a temperaturas mais baixas. (SANTOS; DINHAM; ADAMS, 2013).

As leveduras de alta fermentação são utilizadas para formulação de cerveja estilo *Belgian Blond Ale*. As leveduras de alta fermentação desempenham o papel importante no processo cervejeiro, pois influenciam na diferenciação dos estilos, a *Saccharomyces cerevisiae* possui muitas cepas distintas e por isso, podem transformar um mesmo mosto em cervejas completamente diferentes (GALLONE *et.al.*, 2018).

Na ausência de oxigênio no processo fermentativo, as leveduras realizam a hidrólise da glicose como fonte de energia, produzindo ácido pirúvico que será convertido em etanol e gás carbônico. A multiplicação celular ocorre na ausência de oxigênio e nutrientes que propiciem o crescimento no mosto, dentre eles podemos destacar proteínas, minerais e carboidratos simples (LIVENS, 2016).

As proteínas presentes no mosto, originadas do malte, são fonte de nitrogênio para as leveduras propiciando seu crescimento. Entre os nutrientes do mosto, os minerais são essenciais

para o controle do metabolismo das leveduras; destacando-se o fósforo na formação de ATP e enxofre que é absorvido na forma inorgânica e em aminoácidos sulfurosos é um nutriente necessário para o crescimento celular, sendo secretado como dióxido de enxofre ao decorrer de toda fermentação (LI; WANG; LIU., 2017).

Na fermentação ocorre a formação de aromas, alguns derivados das matérias-primas (lúpulo, malte e adjuntos) outros de compostos formados pelas leveduras. As leveduras de alta fermentação produzem compostos importantes como álcoois superiores, ésteres de acetato e etílicos (etil acetato, fenil etil acetato), aldeídos (acetaldeído), cetonas (diacetil), ácidos orgânicos (ácido acético), fenóis voláteis (4-vinylphenol, 4-vinilguaiacol) e compostos sulfurosos (sulfeto de hidrogênio e tióis) (GAMERO *et al.*, 2014; SHOPSKA *et al.*, 2019).

2.4.5 Adjuntos

A Legislação brasileira define como adjuntos cervejeiros as matérias-primas que substituam, em até 45% em peso em relação ao extrato primitivo, o malte ou o extrato de malte na elaboração do mosto cervejeiro. Consideram-se adjuntos, cereais maltados ou não, no entanto, deve ser apto ao consumo humano, desde que sejam fontes de amido e açúcares (BRASIL, 2019).

Geralmente os produtos utilizados são cereais ou vegetais ricos em carboidratos, os mais comuns em produção cervejeira são: milho, arroz, cevada, trigo e sorgo. São principalmente utilizados em decorrência de razões econômicas, pois apresentam custo mais baixo na produção do extrato e melhoram a qualidade físico-química e sensorial do produto final (STEWART, 2016).

A utilização de adjuntos na formulação de cervejas contribui para as características organolépticas e nutricionais do produto, as cervejas produzidas com adjuntos de frutas e vegetais, estão se popularizando no mundo todo, respondendo às demandas de novos estímulos gustatórios, olfativos e visuais do consumidor (MALLET, 2014).

Nos processos de fermentação e maturação de cervejas com adjuntos vegetais, compostos aromáticos e bioativos são extraídos da matéria-prima, particularmente carotenoides e polifenóis, sendo este último quantitativamente o mais abundante. Portanto, a adição de adjuntos durante o processo de fermentação pode contribuir para melhorar o conteúdo de compostos bioativos da cerveja (NARDINI; GARAGUSO, 2020).

2.5 SUB- PRODUTO DE BETERRABA

Nos últimos anos o aproveitamento integral dos alimentos tem sido uma tendência global. Esses esforços visam diminuir o desperdício de alimentos, gestão sustentável dos resíduos, bem como, enriquecimento nutricional com compostos bioativos em produtos inovadores (KOWALSKA *et al.*, 2017).

A beterraba (*Beta vulgaris*) é uma raiz de cor vermelho-púrpura que pode ser consumida crua ou processada. Sua cor distinta ocorre pela presença de pigmentos naturais, as betalaínas, os quais são hidrossolúveis e amplamente utilizados na indústria alimentícia. A beterraba também é fonte de vitaminas, como a vitamina C e vitamina B₆, folato, minerais, fibras alimentares e alta capacidade antioxidante (CLIFFORD *et al.*, 2015).

Apesar do elevado valor nutricional as cascas de beterraba são um exemplo de subproduto pouco utilizado pela indústria de alimentos e bebidas (SANTOS, 2016), contudo a elaboração de alimentos e bebidas com adição de subprodutos vegetais de alto valor biológico contendo fitoquímicos como polifenóis e betalaínas, como a beterraba é uma alternativa promissora para agregar valor aos recursos subutilizados (GALANAKIS, 2013).

Crescentes evidências demonstram que os subprodutos vegetais são fontes promissoras de compostos de alto valor como antioxidantes, fibras, carboidratos, pigmentos, vitaminas, minerais, entre outros. Nesse sentido, a incorporação desses subprodutos como ingredientes funcionais em produtos alimentícios é uma alternativa para aumentar a qualidade nutricional dos produtos em que serão incorporados e agregar valor aos recursos que seriam descartados. Atendendo através dessa aplicação a necessidade de menor geração de resíduos para o meio ambiente, bem como a crescente demanda dos consumidores por alimentos funcionais (FERNANDEZ *et al.*, 2020).

2.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM CERVEJAS

O recente interesse relacionado aos compostos fenólicos presentes em frutos tem o objetivo de agregar características funcionais aos produtos alimentícios, por proporcionar benefícios à saúde, uma vez que estes conferem propriedades antioxidantes não apenas para os alimentos, bem como para o organismo do homem (VOGEL, 2017).

As principais fontes de fenóis na dieta humana incluem cereais, frutas e legumes, além do vinho, da cerveja, chás, café e chocolates. Estes compostos possuem habilidade de sequestrar radicais livres, pela doação de hidrogênio ou elétrons, ou também pela quelação

de íons metálicos. Relacionando o conteúdo total de antioxidantes presentes em uma cerveja, estes dependem não só do tipo de cerveja, mas também das matérias-primas utilizadas e do processo de fabricação (VOGEL, 2017).

A adição de frutas e vegetais as cervejas têm se destacado no mercado cervejeiro, uma vez que, a utilização desses ingredientes ao processo de fabricação, atribui a bebida sabor frutado. A matéria-prima é adicionada como adjunto, pois os açúcares presentes na sua composição contribuem na fermentação do mosto, desta forma, atribuindo a cerveja características sensoriais e físico-químicas peculiares, além disso, pode conferir a cerveja atividade antioxidante, agregando mais valor à bebida (VOGEL 2017).

Os compostos fenólicos, responsáveis pela atividade antioxidante na cerveja, se desenvolvem de acordo com o tipo de cerveja, modo de fabricação e matérias-primas. Deste modo, cervejas com percentuais mais elevados de compostos fenólicos têm incitado pesquisadores a produzir estudos com o propósito de analisar a utilização de adjuntos na produção de cervejas artesanais que atribuam a bebida potencial funcional, como adicionada de brócolis como fonte de compostos bioativos; cervejas adicionadas de frutas como suco de limão, xarope de framboesa, suco de laranja, uva, cacau; bem como ervas chá verde, dente de leão, sálvia, *Artemisia vulgaris*, *Juniperus communis*, *Melissa officinalis*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus serpyllum*, *Acorus calamus*, *Cinnamomum verum*, *Hypericum perforatum*, *Lupuli strobuli*, *Urticae radix*, *Brassica nigra* e *Coriandrum sativum* são algumas das plantas ou extratos de plantas que têm sido usados na fabricação (HAYWARD *et.al.*, 2019; HABSCHIED, *et. al.*, 2020; ABELLAN *et.al.*, 2021).

Neste sentido, adição das frutas em cervejas visa aprimorar suas características antioxidantes e sensoriais, devido a síntese de substâncias que agregam valor a bebida. A atividade antioxidante da cerveja é um fator relevante na determinação da qualidade nutricional, de modo que o consumo moderado, tem a habilidade de potencializar a capacidade antioxidante do plasma sanguíneo, reduzindo dessa forma o risco de doenças coronárias (NARDINI E GARAGUSO, 2020).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Para elaboração da cerveja foi utilizado malte *pilsen*, malte aromático (caramelo), sacarose, aveia em flocos, lúpulo East Kent Goldings (pallets e 4,6% de α -ácidos) com excelente perfil aromático notas terrosas, de especiarias e florais e levedura comercial liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* da Safbrew T-58 de origem Belga. Os insumos foram adquiridos no mercado local da cidade de João Pessoa-PB e Recife-PE. As cascas de beterraba foram obtidas através de doação em parceria com restaurantes *self-service* da zona sul de João Pessoa-PB.

As cervejas foram elaboradas no Laboratório de Análises e Pesquisas de Bebidas Alcoólicas (LBA) – Campus I da UFPB, assim como as análises de atividade antioxidante. As análises de compostos voláteis foram realizadas no Laboratório de Flavor (LAF) da UFPB – Campus I. As análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE, foram realizadas em parceria com o laboratório do IFPE – Campus Petrolina.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Processamento das cascas de beterraba

As cascas foram higienizadas em água corrente e solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 15 minutos, e posteriormente escurridas em peneiras. Após a retirada do excesso de água as cascas foram trituradas em multiprocessador, homogeneizadas e embaladas em sacos de polietileno que foram armazenados em freezer a -18 °C, até o momento do uso. A Figura 2, são as cascas de beterraba após higienização.

Figura 2 - Cascas de beterraba

Fonte: Autor (2021)

3.2.2 Formulações da cerveja com adição de cascas de beterraba

Para a formulação das cervejas foi utilizado o software BeerSmith2[®], que auxilia no balanceamento da matéria-prima para que o produto fique dentro dos parâmetros para que fosse atingido o estilo escolhido com maior precisão, o software segue os padrões das características esperadas para o estilo *Belgian Blond Ale* descritas pelo BJCP (2015).

Utilizou-se na formulação do mosto, malte pilsen, malte âmbar (caramelo), sacarose, aveia em flocos, lúpulo East Kent Goldings (pallets e 4,6% de α -ácidos) com excelente perfil aromático notas terrosas, de especiarias e florais; a levedura comercial liofilizada *Saccharomyces cerevisiae* da Safbrew T-58 de origem Belga (Tabela 1). Os insumos foram adquiridos no mercado local da cidade de João Pessoa-PB e Recife-PE.

Tabela 1 - Matérias-primas utilizada na fabricação de cerveja com casca de beterraba
Tabela com os ingredientes utilizados para a produção das cervejas

Maltes	Lúpulo	Levedura	Casca de beterraba
Pilsen 80,4% Âmbar 5,4%	East Kent Golding	T-58 SafeAle [®] (<i>S. cerevisiae</i>)	10-15 -20% de casca por Litro de mosto

Fonte: Próprio autor (2021).

Foram elaboradas três formulações de cervejas com adição de cascas de beterraba, distinguindo apenas na concentração de cascas (Tabela 2). O percentual de cascas a serem adicionadas em cada formulação foi calculado em relação ao volume de mosto. A formulação

B1 apresenta 10% (100g/L) de cascas, B2 contém 15% (150g/L) e B3 com 20% (200g/L) de cascas de beterraba. A adição das cascas foi realizada no processo de fervura do mosto com o auxílio de um *hop bag*. A formulação controle foi elaborada para título de comparação, sem adição de cascas, seguindo as proporções de matéria-prima já mencionada.

Tabela 2 - Formulações das cervejas com adição de cascas de beterraba

Formulação	Concentração de cascas adicionadas (g/L)*
Controle	-
B1	100
B2	150
B3	200

*Concentração de cascas em relação ao volume do mosto.

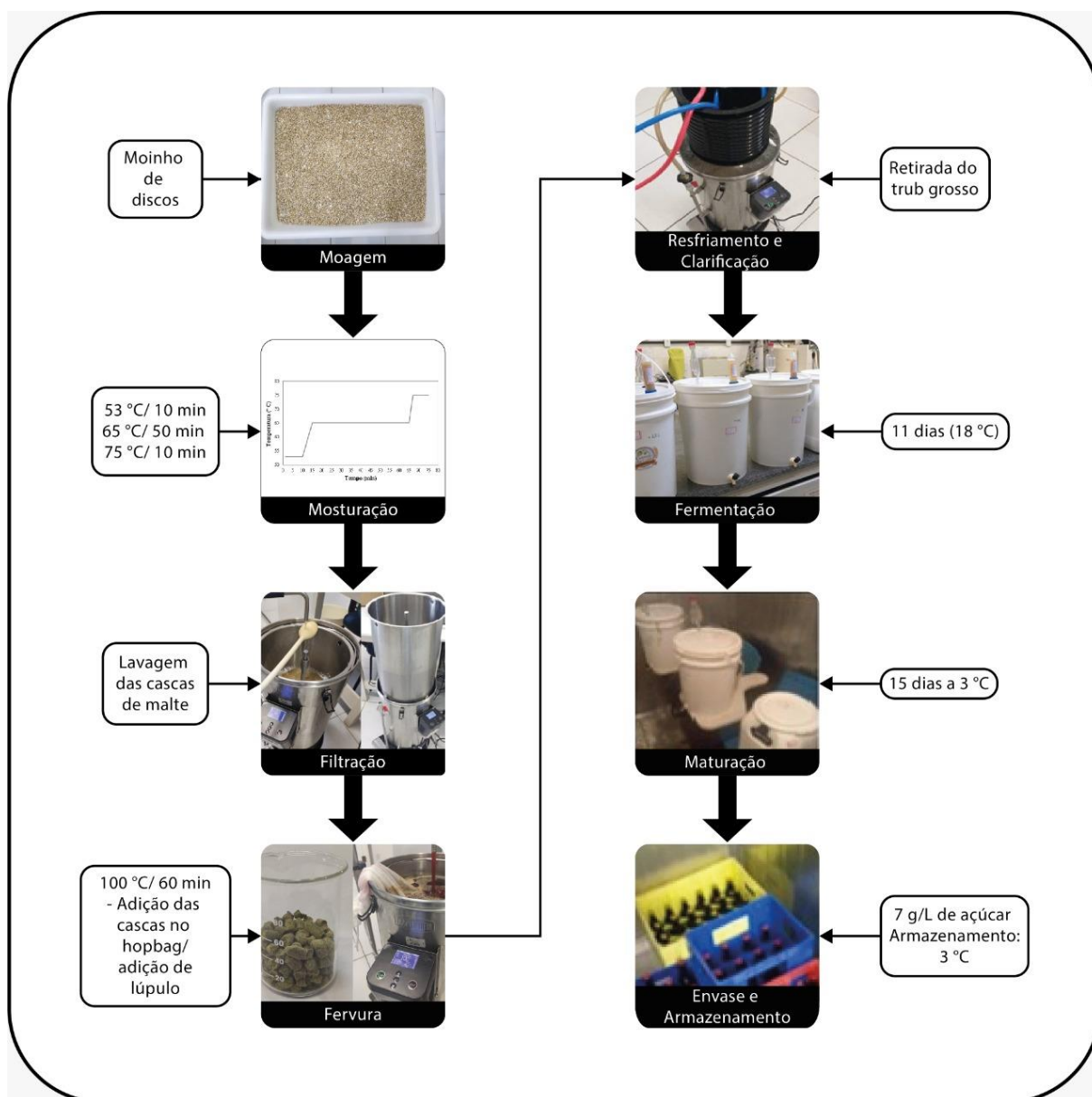
Fonte: Próprio autor (2021).

O inóculo de levedura foi de 6×10^6 células/mL de mosto levando em consideração a razão de $0,6 \times 10^6$ células/mL para cada °Brix, como descrito por White *et al.* (2010) para cervejas do tipo ale e a recomendação do fabricante.

3.2.3 Preparação das cervejas com adição de casca de beterraba

A produção das cervejas foi realizada no The GrainFather®, um sistema único para fabricação de cerveja caseira, seguindo a metodologia descrita por Venturini (2010) com adaptações descrita no fluxograma (Figura 3):

Figura 3 - Fluxograma de produção de cerveja com casca de beterraba



Fonte: Autor (2021)

Os maltes *pilsen* e âmbar foram pesados de acordo com a receita, após a pesagem, foram moídos. A moagem foi realizada com auxílio de moinho de discos de maneira a expor a porção amilar do cereal maltado (Figura 4).

Figura 4 - Maltes moídos utilizados na fabricação da cerveja com adição de cascas de beterraba



Fonte: Autor (2021).

Em seguida o malte moído foi imerso em água pré-aquecida para o início da mostura, mantendo a média de 53 °C por 10 min durante a primeira rampa de mostura, e 65°C por 50 min durante a segunda rampa de mostura, para ativar as enzimas necessárias para conversão de açúcares complexos em açúcares fermentescíveis. Após esse processo realizou-se o teste de iodo para confirmar a hidrólise do amido, última imagem da direita para a esquerda (Figura 5).

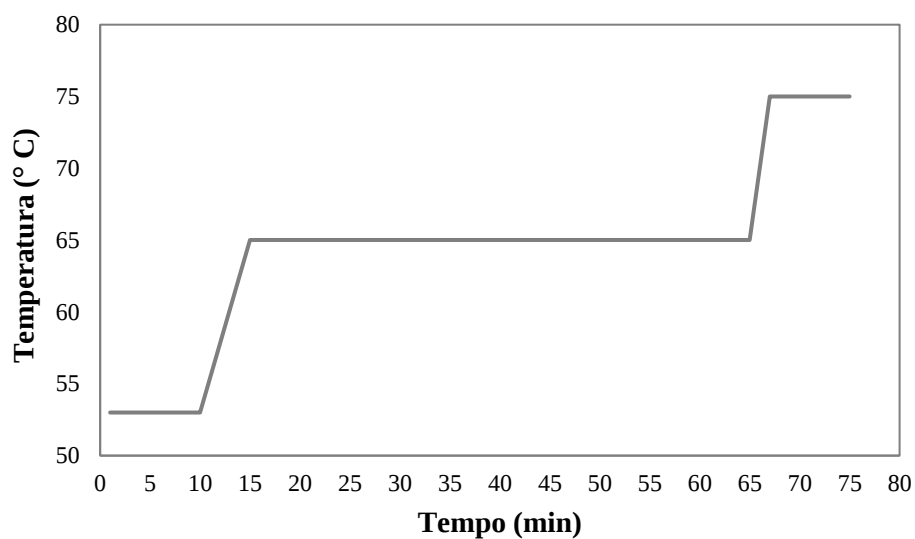
Figura 5 - Teste de iodo para verificação da hidrólise do amido



Fonte: Autor (2021).

Transcorrido este tempo, a temperatura foi elevada para 75 °C por 10 minutos, sendo esta fase denominada *mash out*, e refere-se à desativação enzimática. O produto resultante desta etapa é designado de mosto. A Figura 6 representa a variação de temperatura em função do tempo na mosturação, rampas de mostura, que foi utilizada na cerveja com adição das cascas de beterraba.

Figura 6 - Variação de temperatura em função do tempo na mosturação empregada na cerveja com adição de cascas de beterraba



Fonte: Autor (2021).

A filtragem do mosto foi feita no recipiente de mostura, equipado com fundo falso, onde as cascas do malte agiram como filtro. A torta residual foi lavada com água aquecida a 75°C para retirar os açúcares remanescentes no bagaço do malte (Figura 7).

Figura 7 - Filtração do mosto da cerveja com adição de casca de beterraba



Fonte: Autor (2021).

Com o malte retirado iniciou-se a etapa de fervura (Figura 8), em temperatura de 100 °C. Nesta etapa do processo, as cascas de beterraba foram inseridas no mosto dentro de um *Hop Bag*. Adicionou-se o lúpulo no início da fervura deixando por 60 min. Para assim obter todos os compostos necessários do lúpulo e deixar a cerveja com sua densidade esperada para a fermentação.

Figura 8 - Fervura do mosto da cerveja com adição das cascas de beterraba



Fonte: Autor (2021).

Resfriou-se o mosto a 25°C, com o auxílio de um *chilling* e realizou-se a clarificação, que consiste em movimentar o mosto de forma circular a fim de criar um vortex que agregou as impurezas (trub grosso) no centro da tina e foi retirado do mosto. Transferiu-se preparo para o fermentador, onde foi inoculada levedura Belga, previamente ativada, específica para o estilo da cerveja.

A fermentação ocorreu a temperatura de 18°C por 11 dias, após esse processo diminuiu-se a temperatura do fermentado para iniciar a maturação que durou 15 dias a 3°C, para clarificar o máximo possível a cerveja com a decantação dos sólidos em suspensão expostos na fermentação primária.

A trasfega foi realizada com o objetivo de separar o mosto das leveduras que decantaram durante a maturação, garantindo assim maior clarificação da bebida. O *priming* foi adicionado ao mosto antes do envase (açúcar invertido 7g/L) para refermentação na garrafa. As cervejas foram envasadas em garrafas de 600 mL previamente esterilizadas. Os recipientes foram armazenados a 20°C por 7 dias para propiciar a carbonatação da cerveja, em seguida as garrafas foram guardadas sob refrigeração a 8°C, até a realização das análises.

3.2.4 Determinação da viabilidade celular

A determinação da concentração celular (cel/mL) e a viabilidade foi realizada em câmara de Neubauer ($1/400 \text{ mm}^2 \times 11/10 \text{ mm}$), utilizando a coloração diferencial das células pela solução de azul de metileno (0,1%) (WHITE, ZAINASHEFF, 2010). A cada 24h contagem celular foi realizada durante o processo fermentativo, sendo os cálculos da concentração celular por mL e viabilidade celular, realizados de acordo as Equações 1.

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

3.2.5 Determinação da capacidade antioxidante das cervejas

3.2.5.1 Método de sequestro de radicais livres ABTS* (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

A determinação da capacidade antioxidante *in vitro*, foi realizada de acordo com o método de captura do radical 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS), a metodologia foi descrita por Kawa-Rygielska *et al.*, 2019. 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. Aliquota de 30 μL da amostra de cerveja previamente diluída foi adicionada em tubos de ensaio, 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 TE/L), com base em uma curva padrão de Trolox (0–2000 μM TE/L).

3.2.5.2 Método de sequestro de radicais livres DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

A análise atividade antioxidante das amostras segundo a metodologia descrita por RUFINO *et al.* (2009). O método consiste na preparação do radical DPPH a 80 μM . Em seguida 180 μL da solução foi adicionada em 100 μL da amostra em tubos de ensaio, após 30min no

escuro, a absorbância foi mensurada a 515 nm. Os resultados foram expostos em mmol equivalentes de TEAC/L.

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

3.2.6.1 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).

3.2.6.2 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).

3.2.6.3 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 µm); 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).

3.2.3.4 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, 3.5µm) e Zorbax C18 (12.6 x 4.6mm, 5 µm). A temperatura do forno foi programada para 35 °C e a fase móvel foi composta de água acidificada (pH2.0) com 0.1 mM/L de ácido fosfórico (fase A) e metanol acidificado com 0.5% de ácido fosfórico (fase B). O fluxo foi mantido a 0.8 mL/min. Os dados obtidos pelo DAD foram processados usando o programa OpenLAB CDS ChemStation Edition TM (Agilent Technologies). A detecção dos compostos fenólicos foi feita a 220 nm para catequina epicatequina, epigallocatequina gallate, procianidina B1 e procianidina B2; 280 nm para ácido gálico, ácido siríngico e hesperidina; 320 nm para ácidos caftarico, cafeico e clorogênico; 360nm para kaempferol 3-glucosídeo, quercetina 3-glucosídeo e rutina e 520 nm para cianidina 3,5-diglucosídeo e delphinidina 3-glucosídeo.

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 $R^2 > 0.998$.

3.2.7 Perfil aromático das cervejas

Os compostos voláteis das cervejas foram extraídos utilizando 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).

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

A extração 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.

Os compostos foram identificados através da 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-alcenos homólogos (C8-C30).

3.2.8 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 de cascas de beterraba (T_x) e da cerveja sem adição de cascas de beterraba (T_0).

A análise de componentes principais (PCA) foi aplicada para o etanol, glicerol, ácido acético, atividade antioxidante, compostos antioxidante e compostos voláteis. 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 decorrência da quantidade de compostos analisados.

REFERÊNCIAS

- ABELLÁN, A.; DOMÍNGUEZ-PERLES, R.; GIMÉNEZ, M. J.; ZAPATA P. J.; VALERO, D.; VALERO C. "The Development of a Broccoli Supplemented Beer Allows Obtaining a Valuable Dietary Source of Sulforaphane." **Food Bioscience**, v.39, n. 2, 2021.
- ALVES, R.R.N.; PEREIRA, D.D.; RIBEIRO, J.E.S.; ALVES, C.A.B.; QUIRINO, G. C. M. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: A viewpoint of opportunities and challenges. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 575-579, 2013.
- AQUARONE, E. SCHMIDELL W., Urgel A.L., Borzani W. **Biotecnologia Industrial**. Editora Blucher: São Paulo, v, 4, 2001.
- 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.
- BAMFORTH, C.; RUSSEL, I.; STEWART, G. **Beer – A quality Perspective. Handbook of alcoholic beverages series**. Volume 1.USA: Academic Press. 304p., 2009.
- BEKATOROU, A. Alcohol: Properties and Determination. *Encyclopedia of Food and Health*, p. 88–96, 1 jan. 2016.
- BJCP. BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM 2015 STYLE GUIDELINES **Beer Style Guidelines**. [S.l: s.n.], 2015. Disponível em: <www.bjcp.org>. Acesso em: 5 nov. 2020.
- BRASIL. Câmara dos Deputados. Decreto nº 6.871, de 4 de julho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a Padronização, a Classificação, o Registro, a Inspeção, a Produção e Fiscalização de Bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 2009.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº65, de 10 de dezembro de 2019**. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria.
- BREWERS ASSOCIATION**. 2017. “Craft brewer defined”, disponível em: www.brewersassociation.org/statistics/craft-brewer-defined/ (accessed july 2020).passport database.London: Euromonitor International.
- 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.
- CLIFFORD, T.; HOWATSON, G.; West, D.J.; Stevenson, E. J. The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. **Nutrients**, v. 7, p. 2801-2822, 2015.
- DURELLO, R., S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR, S. Química do lúpulo. **Química Nova**, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019.

FERNANDEZ, M. V. BENGARDINO, M., JAGUS, R. J., & AGÜERO, M. V.. Enrichment and preservation of a vegetable smoothie with an antioxidant and antimicrobial extract obtained from beet by-products. **Lwt**, v. 117, p. 108-622, 2020.

GALANAKIS, C. M. Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: a viewpoint of opportunities and challenges. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 575-579, 2013.

GALLONE, B., MERTENS, S., GORDON, J. L., MAERE, S., VERSTREPEN, K. J., & STEENSELS, J. **Origins, evolution, domestication and diversity of Saccharomyces beer yeasts.**, v. 49, p. 148–155, 2018.

GAMERO, A., FERREIRA, V., PRETORIUS, I. S., & QUEROL, A. **Wine, Beer and Cider: Unravelling the Aroma Profile.** Molecular Mechanisms in Yeast Carbon Metabolism. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, p. 261–297, 2014.

HABSCHIED, K.; ŽIVKOVIĆ, A.; KRSTANOVIĆ, V.; MASTANJEVIĆ, K. FUNCTIONAL BEER — A review on possibilities. **Beverages**, v. 6, n. 3, p. 51, 2020.

HARRISON, M. A.; ALBANESE, J. B. Beer/Brewing. In: SCHMIDT, T. **Reference Module in Life Sciences: Encyclopedia of Microbiology**, Academic Press, p. 1–11, 2017.

HAYWARD, L.; WEDEL, A.; MCSWEENEY, M. B. Acceptability of beer produced with dandelion, nettle, and sage. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 18, p. 100180, 2019.

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.

KLEBAN, J.; NICKERSON, I. “To brew, or not to brew – that is the question: an analysis of competitive forces in the craft brew industry”, **Journal of the International Academy**, v. 18 n. 3, p. 59-81, 2012.

KOWALSKA H., CZAJKOWSKA K., CICHOWSKA J., LENART A. What’ s new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry Trends in **Food Science & Technology**, v. 67 , p. 150-159, 2017.

LI, Q.; WANG, J.; LIU, C. *Beers*. [S.l.]: Elsevier, p. 305-351, 2017.

LIVENS, S. Beer: **Fermentation. Encyclopedia of Food and Health**, p. 339–344, 2016.

MALLET, J. **Malt : a practical guide from field to brewhouse**. Boulder, Colorado: Brewers Publications, v. 4, 2014.

MAPA, Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário da cerveja: 2020 / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : MAPA/SDA, 2021.

MASCIA, I.; FADDA, C.; KARABÍN, M.; DOSTÁLEK, P.; DEL CARO, A. Aging of craft durum wheat beer fermented with sourdough yeasts. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie. Food Science and Technology*, v. 65, p. 487-494, 2016.

MEIRELES, B.R.L. A. D. A., VITOR, R. C. L., MORAIS, S. K. Q., BARBOSA, T. C. M., COSTA, S. D. S., & FONSECA, S. B. D. . Avaliação do potencial corante e antioxidante de betalaínas (Beta vulgaris, L.) em mortadela de frango. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 7, 2020.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. Editora Lafonte Ltda. Cidade São Paulo 2011.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**. São Paulo: Editora Lafonte Ltda., 2009.

MOURA-NUNES, N. N., BRITO, T. C., da FONSECA, N. D., de AGUIAR, P. F., MONTEIRO, M., PERRONE, D., & TORRES, A. G. . Phenolic compounds of Brazilian beers from different types and styles and application of chemometrics for modeling antioxidant capacity. *Food chemistry*, v. 199, p. 105-113, 2016.

NACHEL, M.; ETTLINGER, S. **Cerveja para leigos**. Volume 1. Rio de Janeiro: Alta Books, ed. 2, p. 376, 2013.

NARDINI, M.; GARAGUSO, I. Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of fruit beers. *Food chemistry*, v. 305, p. 125-437, 2020.

OLIVEIRA, G. R.; BARCELLOS, M. D. Technology, production paradigm and operation: Transformation of Brazilian brewing sector. *Journal of Operations and Supply Chain Management*, v. 10, n. 2, p. 44-55, 2017.

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 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.

PALMER, J.; KAMINSKI, C. **Water A Comprehensive Guide for Brewrs**. Boulder, Colorado: Brewers Publications, v. 1, 2013.

POELMANS, E.; SWINNEN, J. F. M. From monasteries to multinationals (and back): A historical review of the beer economy. *Journal of Wine Economics*, v. 6, n. 2, p. 196-216, 2011.

RELATÓRIO DA UNIVERSIDADE DA CERVEJA KIRIN (2019). Kirin Beer University Report (2018). Consumo global de cerveja por país em 2018. https://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2019/1224_01.html Table1.

- 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.
- 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. *et al.* Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH{radical dot} system. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 693–695, 15 maio 2009.
- SANTOS, C. D. SCHERER, R.K, CASSINI, A.S, MARCZAK, L.D.F, & TESSARO, I.C Clarification of red beet stalks extract by microfiltration combined with ultrafiltration. **Journal of food engineering**, v. 185, p. 35-41, 2016.
- SANTOS, J. I.; DINHAM, R.; ADAMS, C. **Essencial em Cervejas e Destilados**. Senac, 2 ed. São Paulo, 2013.
- SCHMIDELLL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, ed. 1, v. 2, p.541, 2001.
- SEO, S.-H Kim, EJ, PARK, SE, PARK, DH, Park, KM, Na, CS e SON, HS. GC/MS-based metabolomics study to investigate differential metabolites between ale and lager beers. **Food Bioscience**, p. 100-671, 2020.
- SHOPSKA, V. DENKOVA, R., LYUBENOVA, V., & KOSTOV, G . **Kinetic characteristics of alcohol fermentation in brewing: State of art and control of the fermentation process**. [S.l.]: Elsevier Inc., 529-575, 2019.
- STEWART, G. G. **Beer: Raw Materials and Wort Production**. Encyclopedia of Food and Health, p. 355–363, 2016
- TANG, K.; LI, Q. **Biochemistry of Wine and Beer Fermentation**. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry. [S.l.]: Elsevier Inc., 2017. p. 281–304.
- VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e tecnologia**. São Paulo: Editora Blucher, v. 1, ed. 2, p. 492, 2016.
- VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: Ciência e tecnológica**. 2 ed. São Paulo: Editora Bucher, v. 2, 2010.
- 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.
- VIROLI, S. L. M.; VIEIRA, J. T. F.; SOUSA, L. M. C. Produção e Análise de Cerveja Artesanal à Base de Milho. **Journal of Bioenergy and Food Sciene**, v. 1, n. 3, p. 87-89, 2014.

VOGEL, Cristine. Avaliação da adição de pequenas frutas (Berries) na produção de cerveja artesanal: análise físico-química, sensorial, compostos fenólicos e atividade antioxidante. TCC (Bacharelado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Engenharia de Alimentos, Chapecó, 2017.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation. Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation. 1. ed. Boulder: Brewers Publications, 2010. v. 1. p. 1–202.

WOLFGANG, K. *Wolfgang Kunze Technology brewing and malting*. . [S.l: s.n.].VLB-Berlin, p.863, 2004.

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.

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): The influence of beet peels as a brewing adjunct on its beer properties.

The influence of beet peels (*Beta vulgaris*) as a brewing adjunct on its beer properties

Lys Gabriela Correia-Lima^a, José Renato Da-Silva^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 Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

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

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

Abstract

Brewers look for product diversification whether to attend the costumes beer request including low cost, and quality. In several parts of world malt and hops are expensive commodities, therefore, using new sources of carbohydrate to produce beers are vital. This work aims to investigate the influence of BP supplementation in the phenolic compounds, volatile profile, and antioxidant capacity. Worts supplemented with BP were produced using 4 treatments (including a control, B1, B2, and B3). Fermentations were conducted 11 days at 18°C, aged at 3°C for 15 days and bottled (7 g of sucrose per bottle) at 20°C for 15 days. The beers were evaluated by HPLC (ethanol, glycerol, organic acids and phenolic compounds), GC-MS (volatile compounds); and the antioxidant activity. Worts supplementation with BP increased volatile profile, phenolic composition, and the antioxidant activity. Glycerol content was reduced due to BP supplementation.

Key-words: Brewing, wort, beet peels, volatile, phenolic compounds, antioxidant

1. Introduction

Brewing comprehend the use of four essential raw materials (including barley malt, water, hops and yeast). Beer production involves several stages including grain malting, wort production, fermentation, maturation and packaging (Stewart 2016, Briggs et al. 2004, Boulton and Quain 2001). Brewing wort is a complex substrate where nutrients are used by yeast for growth, performance, metabolic activities, and chemical reactions (Ribeiro-Filho et al. 2021). Lately, brewers have been looking for new raw material sources because barley malt and hops are very expensive commodities. 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). An advantage of raw materials from different world regions because can reduce production cost, and is considered an important part of the beer's flavour (Cadenas et al. 2021).

The use of adjuncts in the composition of the brewer's wort supplemented can improve the bioactive compounds and attribute new organoleptic characteristics to the beer (Leonard et al. 2021, Cadenas et al. 2021). In addition, replacing part of malt by an adjuncts improve the possibilities of making beer in several parts of world and consequently reduction of production cost. Beetroot (*Beta vulgaris L.*) contains high concentrations of betalains, carotenoids, phenols, B-vitamins (B1, B2, B3, B6, and B12), folate, minerals, fibre, and inorganic nitrate (De Oliveira et al. 2020, Habschied et al., 2020, Ceclu et al. 2020, Ferreira; Guido, 2018). Furthermore, beetroot has medicinal uses (including anti-oxidant, anti-depressant, anti-microbial, anti-fungal, anti-inflammatory, diuretic, and expectorant) (Habschied, et al. 2020). As any other vegetable, beetroot generates a large amount of waste when peeled in restaurants kitchen. However, beet peels is classified as a food waste (food loss), and contains all nutrients present in beetroot (Ribeiro-Filho et al. 2021, De Oliveira et al. 2020). Beet peels is a food waste that can be included as a world concern because of the concept of sustainability is combined of three pillars: economic, social, and environmental (Lipinski et al. 2013; Santagata et al. 2021). One way for keeping development and for extinguishing hunger is using sustainable food production as a key for sustainable food production (Ribeiro-Filho et al. 2021). As an alternative, new techniques for food waste utilisation and recovery have been developed by researchers.

Currently, a healthy diet including “functional food” are in evidence because of consumers are seeking for living standards to improve their health (Ceclu et al. 2020). The expansion of functional beers occurs due to the demand of customers. The possibility of

inserting adjuncts to the beverage including herbs, vegetables, fruits, spices, other compounds, and food waste can result in an innovative way to combine food sustainability, and health-beneficial ingredients (Habschied et. al., 2020). Therefore, applying food waste in brewing as an adjunct can increase beer nutritional value, phenolic compounds, and antioxidant activity (Fernandez *et al.* 2020).

Considering the nutritional composition of beet peels (BP) and its richness in antioxidant compounds, its use as an adjunct and the possibilities of reducing production costs, beet peel recovering and, mainly, its chemical and biochemical mechanisms, which may influence on the formation of ethanol, glycerol, organic acids, and volatile compounds and, as a consequence, influence on phenolic compounds. Therefore, this work aims to investigate the influence of wort supplemented with BP on the phenolic compounds, volatile profile, and antioxidant capacity. It may contribute to the understanding of food waste utilisation, recover BP, to reduce production cost to restaurants and brewers. Also, generating a beer with a high nutrition content and antioxidant properties.

2. Methodology and methods

2.1 Brewing Materials

The raw materials used include pilsner malt (Agraria®), amber malt (caramel), commercial hops, sucrose, rolled oats (East Kent Goldings®); a commercial freeze-dried yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Safbrew® T-58); and beet peels as an adjunct. The last one was obtained from a rural area of Parari, Paraíba state, Brazil. Beet peels were obtained from local restaurants in João Pessoa city/Paraíba state/Brazil. 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.

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), 150 g/L (Beer B), and 200g/L (Beer C). Fermentations were conducted in a FastFerment 30 L conical fermenter using with yeast *Saccharomyces cerevisiae* (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 packaged into 600 mL glass brown bottles, bottle conditioned (7 g of sucrose per bottle) at 20 °C for 15 days and subsequently stored at 3 °C prior to sensory evaluation.

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 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 0.45µm Millex-HA filters (Millipore Co., Bedford, MA). The injection volume was 10 µL and the solvent flow was 0.8 mL/min. The Agilent Hi-Plex H ion exchange column (300 x 7.7 mm) featured 8 mm particles, protected by a PL Hi-Plex H (5 x 3 mm) pre-column (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The mobile phase was 0.004 mol/L of H₂SO₄, 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 µm. The mobile phase was 4 mmol/L H₂SO₄ with a flow rate of 0.5 mL/min, the injection volume was 10 µL 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 LOD < 0.044 g/L and LOQ < 0.151 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 µm) and a Zorbax C18 (12.6 x 4.6mm, 5 µm). The mobile phase was 4mmol/L H₂SO₄ with a flow rate of 0.5 mL/min, the injection volume was 10 µL 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).

2.5 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, SigmaAldrich) and closed with 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 µm 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 0,25µm). 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).

2.6 Antioxidant capacity analysis

The antioxidant capacity was evaluated 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).

2.7 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

Pilsen malt, amber malt (caramel), sucrose, rolled oats, East Kent Goldings hops (pallets and 4.6% α -acids) and beet peels as adjunct were used for wort formulations. Four formulations of wort were prepared including 0 (zero) g of beet peels/L (Control), 100g of beet peels/L (B1), 150g of beet peels/L (B2), and 200g of beet peels/L (B3) (sub-topic 2.2). Beet peel addition was conducted during the boiling process. Fermentations were carried out in a FastFermente 30L holder fermenter using 0.5 g/L (6×10^7 cells/mL) of yeast *Saccharomyces cerevisiae*

(Safbrew T-58), and were conducted at 18 °C for 11 days, 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 bottle) at 20 °C for 15 days. Afterwards, physicochemical analysis, antioxidant capacity, HPLC analysis (including ethanol, glycerol, organic acids, and phenolic compounds), and GCMS analysis (volatile compounds) were conducted.

3.1. The effect of wort supplementation with beet peels in the yeast viability

Yeast viability is an important indicator of fermentation performance and quality is well known. Results show that wort supplementations with beet peels had not effect in the yeast viability, except in the samples 2 (B2), which increased significantly ($p < 0.05$) yeast viability to 88% (Fig. 1). Samples P (control), B1, and B3 did not present significant differences among its yeast viability although its yeast viability varies from 66 to 78% (Fig. 1). When wort was supplemented with 150 g of beet peels/L, yeast viability significantly increased ($p < 0.05$), which indicates that a part of volatile compounds content may increase by influence of yeast growth and maintenance. In contrast, B1 and B3 presented a higher yeast viability than sample P (control) but they are not significantly different (Fig. 1). However, it may indicate that wort supplementations with beet peels does influence in the yeast metabolic activities as well.

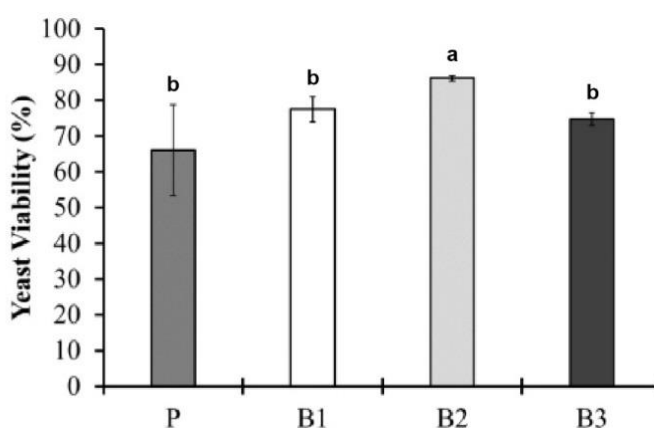


Fig. 1. Final yeast viability (%) obtained from treatments evaluated including of control beer (■), Beer B1 (□), Beer B2 (▨) and Beer B3 (■). Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation ($n=3$). Different lower case letters indicate a significant difference ($p < 0.05$) for viability according to the Tukey test.

3.2. The effect of wort supplementations with beet peels on ethanol, glycerol, acetic acid, and a sum of acids

Fermentations supplemented with beet peels influenced ethanol production. Beer B2 (61.6 g/L) and beer B3 (60.3 g/L) increased significantly ethanol content ($p < 0.05$). Sample B1 (54.5 g/L) contains a lower ethanol concentration than P (56.5 g/L, control) but they do not show any significance differences ($p < 0.05$) (Fig. 2). In contrast, sample B1 presented a higher significant ($p < 0.05$) formation of glycerol (4.0 g/L) among all samples evaluated. Sample B2 generated a lowest concentration of glycerol (3.2 g/L) ($p < 0.05$) (Fig. 2). Although in the sample B3 was applied the highest quantity of beet peels (200 g/L), it presented a similar glycerol concentrations (3.5 g/L) as the control (P).

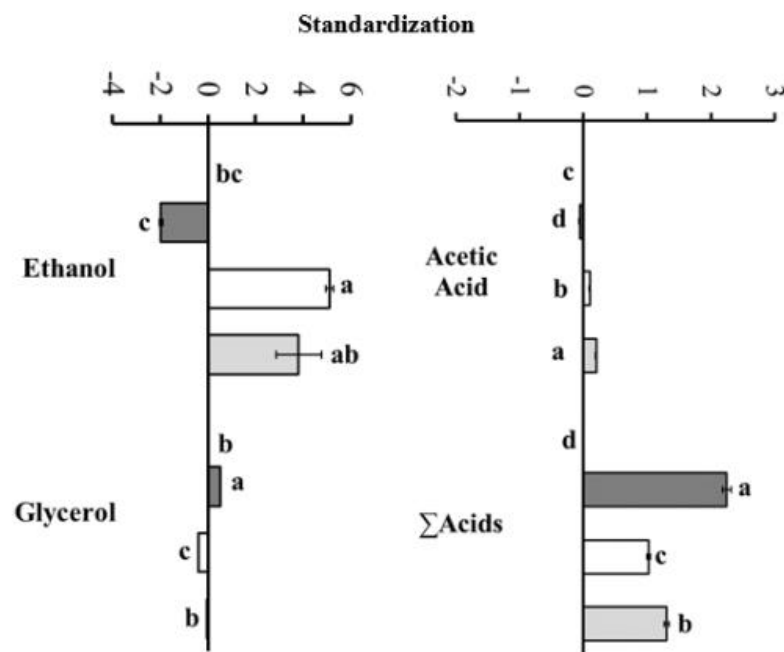


Fig. 2. Relative difference (to control beer) for Beer B1 (■), Beer B2 (□) and Beer B3 (▒), in the production of: ethanol and glycerol (A); and acetic acid and other acids (B). Data is presented as standardised difference to Beer P (control), Tukey's post hoc test was used to identified significant differences and is presented as lower-case letters. Different letters indicate significant differences in viability within a species ($p < 0.05$).

Wort supplementation with beet peels influenced in the organic acids formation (Fig. 2B). When compared to sample P (7.1 g/L), which contains the lowest organic acids content,

samples B1 (9.4 g/L), B2 (8.2 g/L), and B3 (8.5 g/L) showed a significant ($p < 0.05$) increase of organic acids content (Fig. 2B). Sample B1 (9.4 g/L) showed the highest organic acids content ($p < 0.05$) (Fig. 2B). Acetic acid content is part of the sum of organic acids evaluated.

Therefore, sample B3 (1 g/L) presented the highest acetic acid content ($p < 0.05$) and sample B1 presented the lowest acetic acid content ($p < 0.05$) (Fig. 2B). Additionally, sample B1 contains the highest significant ($p < 0.05$) concentration of malic acid (0.65 g/L), and lactic acid (0.76 g/L) (Table S1). Sample B2 (0.69 g/L) contains the highest significant ($p < 0.05$) concentration of formic acid (Table S1). Samples P (0.49 g/L) and B3 (0.47 g/L) contain the highest significant ($p < 0.05$) concentration of citric acid. The sample B1 (0.29 g/L) contains the lowest significant ($p < 0.05$) concentration of citric acid (Table S1). Furthermore, samples B1 (4.9 g/L), B2 (4.9 g/L), and B3 (5.0 g/L) presented higher significant ($p < 0.05$) succinic acid content than P (4.1 g/L).

3.3 Effect of wort supplementation with beet peels on aroma compounds

Fifty-seven volatile compounds were identified in all wort formulations. All volatile compounds measured are from compounds' groups including higher alcohols, fatty acids, aldehydes, esters, phenols, hydrocarbons, lactones, pyran, sulfur, and terpenes (Fig. 3). Esters and alcohols were the most abundant classes of compounds identified in all formulations. Higher alcohols had the second highest significant relative abundance ($p < 0.05$) among all group of compounds evaluated. Additionally, in all samples presented higher alcohols (including β -Phenethyl alcohol and 2-Methyl-1-butanol) as a second more abundante volatile compounds identified. Worts supplemented with beet peels (B1, B2, and B3) showed a higher significant ester content ($p < 0.05$). Sample B3 presented the highest significant isoamyl acetate content ($p < 0.05$). Sample P (control) showed the highest significant β -phenethyl acetate ($p < 0.05$) content (Fig. 3). Sample B2 showed the highest significant ($p < 0.05$) ethyl decanoate content (Fig. 3). Sample B3 contains the highest significant ($p < 0.05$) 2-methyl-1-butanol content (Fig. 3).

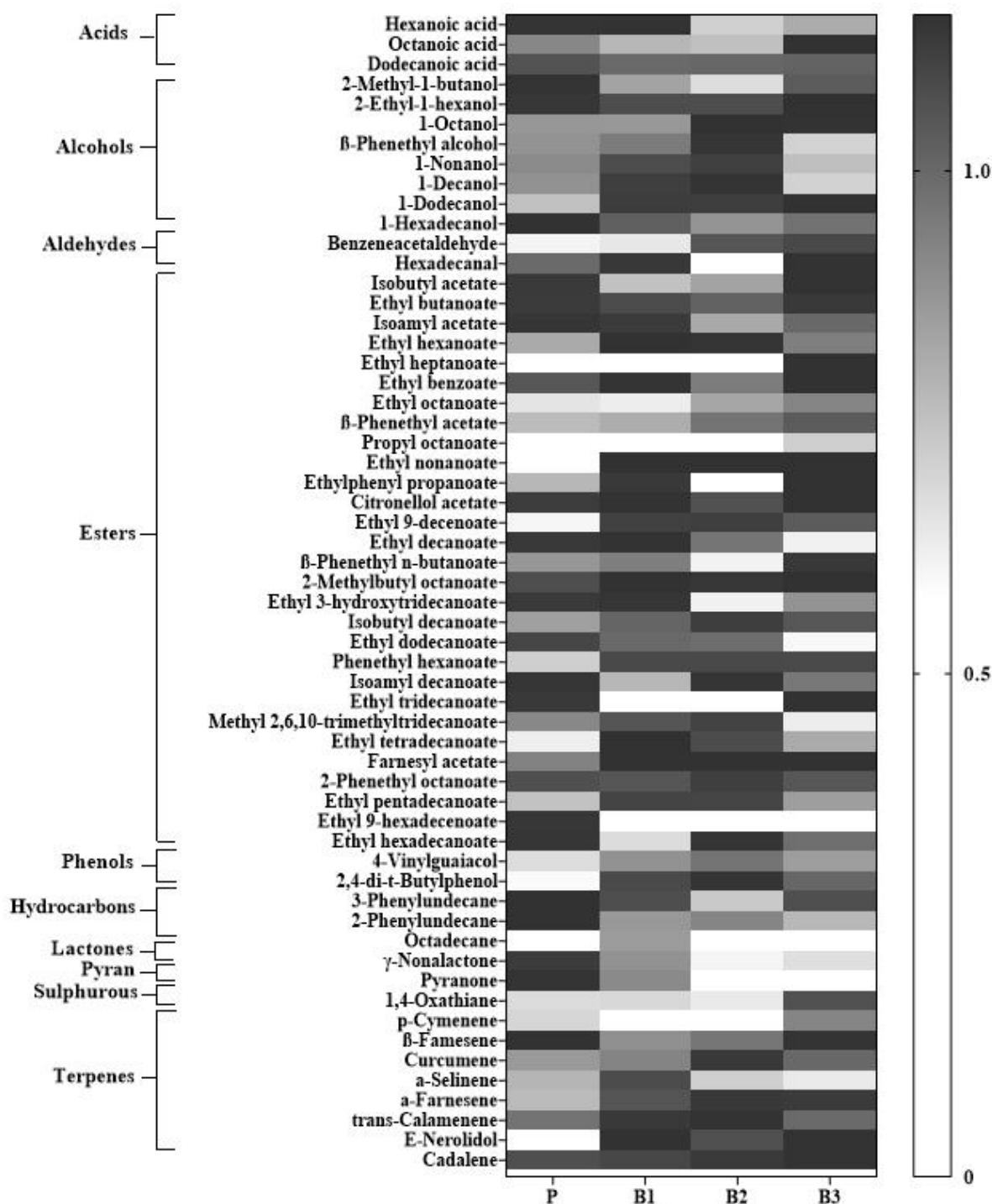


Fig. 3. The heat map of volatile compound contents (including fatty acids, higher alcohols, esters, phenols, hydrocarbons, lactones, sulphurous, and terpenes) measured from Beer P (control), Beer B1, Beer B2, and Beer B3.

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

The antioxidant capacity of wort supplemented with beet peels were evaluated using DPPH, and ABTS, methods. A significant effect of the amount of beet peels on the antioxidant activity by the DPPH•, and ABTS+• methods were observed ($p<0.05$) (Fig. 4A). Wort supplemented with beet peels increased the antioxidant activity of all samples evaluated (Fig. 4A). When applied ABTS⁺⁺ method, the highest antioxidant activity was observed in sample B3 (24.50 mmol TEAC/L) (Fig. 4A). However, when observed DPPH method, samples (12.25 mmol TEAC/L) and B3 (12.30 mmol TEAC/L) presented the highest antioxidant activity (Fig. 4A). Our data clearly reveal that wort supplementation with beet peels increased the antioxidant activity (Fig. 4A). The sum of phenolic compounds content was influenced by the supplementation of the wort with beet peels (Fig. 4A). Samples B1 (20.0 g/L), and B2 (19.6 mg/L) showed the highest significant content of sum of phenolic compounds ($p<0.05$) (Fig. 4A). Samples B3 (18.19 mg/L) contains a higher sum of phenolic compounds ($p<0.05$) than sample P (15.99 mg/L, control) (Fig. 4A).

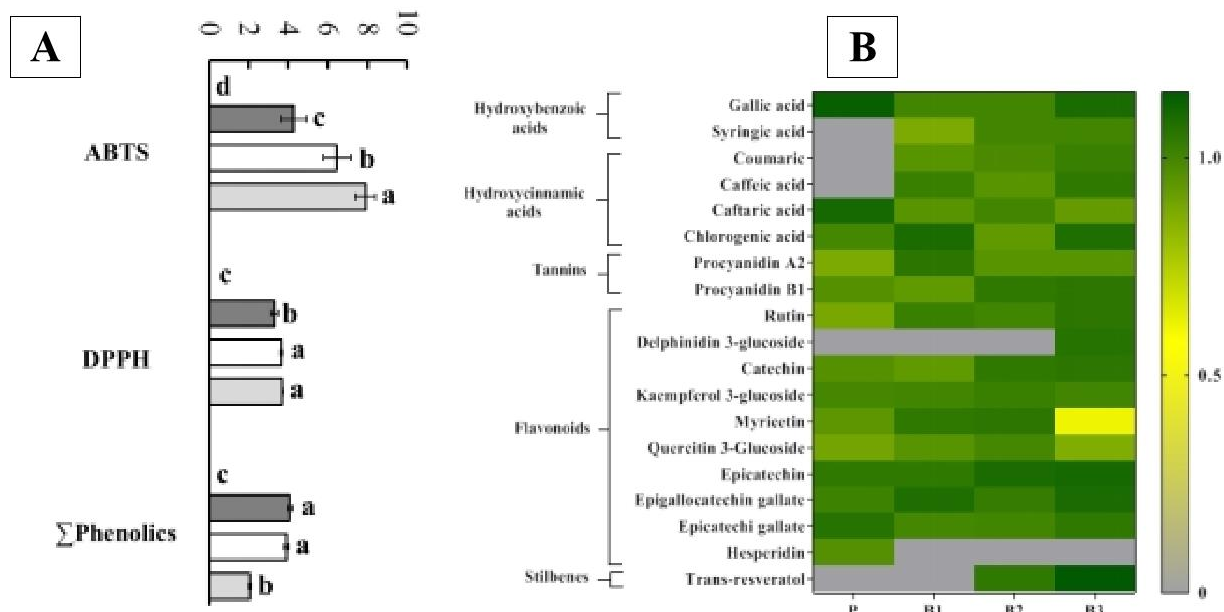


Fig. 4. A) Relative difference (to control beer) for B1 (■), Beer B2 (□) and Beer B3 (▒), for the antioxidant activity evaluated by the DPPH and ABTS methods, and the sum of phenolic compounds; **B)** A heat graph for explaining phenolic compounds contents including flavonoids, hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, tannins and stilbenes 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 ($p < 0.05$).

Nineteen phenolic compounds from the group of flavonoids (10 compounds), tannins (2 compounds), benzoic acids (2 compounds), cinnamic acids (4 compounds) and stilbenes (1 compound) were identified (Fig. 4B). Sample B3 showed the higher significant content of flavonoids and stilbenes ($p < 0.05$). In contrast, a higher tannins and cinnamic acids content were identified in sample P ($p < 0.05$). Furthermore, sample P (control) presented the lowest concentration of syringic acid, coumaric, and caffeic acid; however, when wort were supplemented with beet peels these compounds content significantly increased. Delphinidin 3-glucoside content increased significantly in the sample B3 (0.12 mg/L) but was not identified in any other samples evaluated (Fig. 4B). In contrast, hesperidin was present in the sample P (0.49 mg/L, control) but was not identified in the samples supplemented with beet peel (Fig. 4B). All other phenolic compounds measured increased in supplemented samples, except caftaric acid, gallic acid, and epicatechi gallate, which its highest concentration were identified in the sample control (Fig. 4B).

3.5 Principal component analysis for volatile 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 41.2% and 33.8% of the variance, respectively, which totals 75% of total variability. Consequently, PC1 and PC2 correspond to a cumulative variance > 60%, and eigenvalue > 1 (Kaiser Criteria), which were used to describe/select data. Overall, observing PC1, ethanol and glycerol were negatively correlated, on the other hand, ethanol and acetic acid formation were positively correlated, which was not expected (Fig. 5A). Moreover, a correlation matrix (Pearson (n)) (Table S5) was evaluated to support a real representation of the data (Fig 5A).

PC1 separated beers supplemented with beet peels (including B1, B2, and B3), which contains higher content of ethyl octanoate, ethyl hexanoate, ethyl decanoate, isoamyl acetate, ethyl dodecanoate, ethyl heptanoate, octanoic acid, acetic acid, ethanol and glycerol; from sample P (control), which contains the highest content of 1-hexadecanol, 1,4-oxathiane, ethyl tridecanoate, ethyl 9-decenoate, ethylphenyl propanoate, benzeneacetaldehyde and 1-nonanol. Wort supplemented with beet peels presented an increase of volatile compounds.

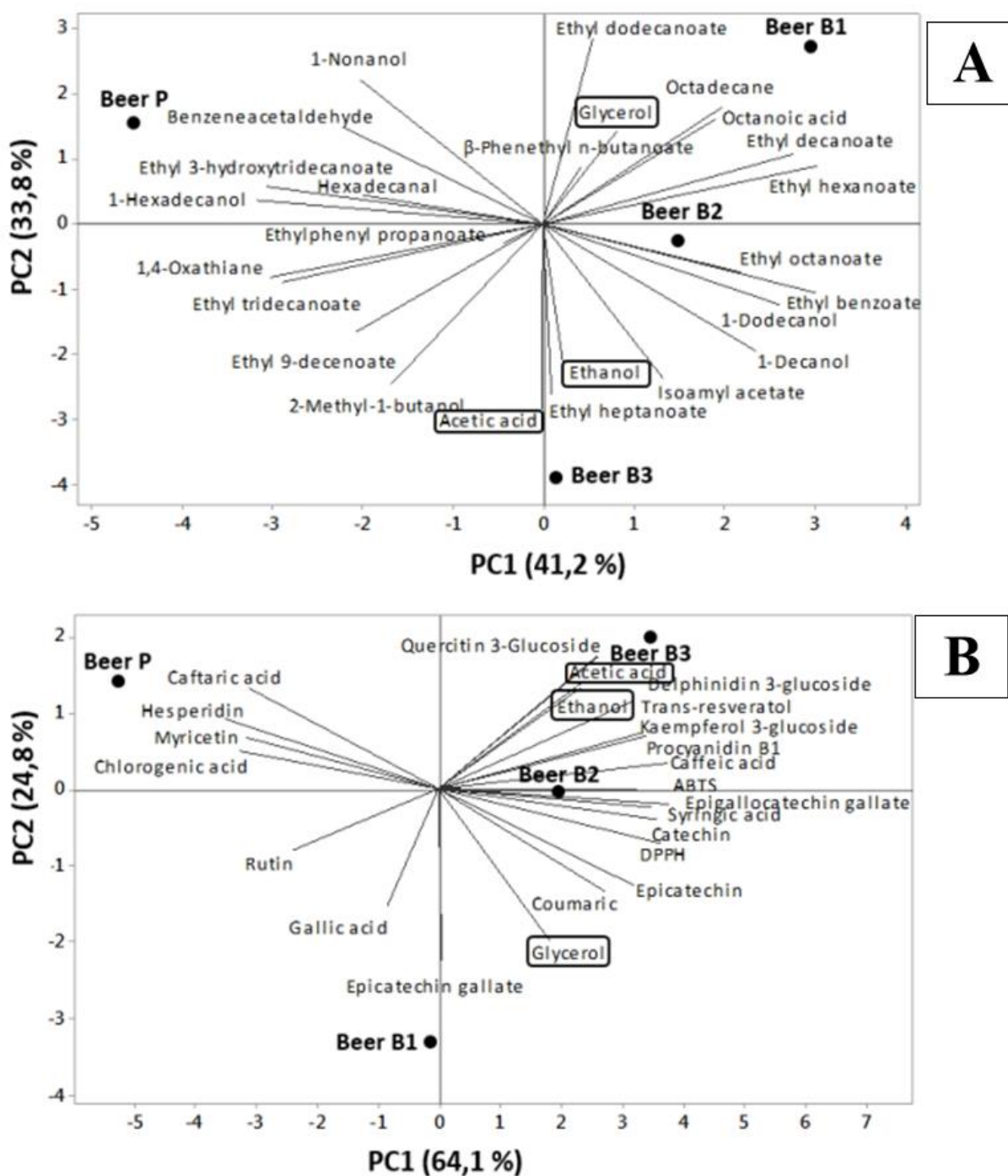


Fig. 5. Principal component analysis (Bi-Plot) of ethanol, glycerol, and acetic acid as fermentation markers; and its correlation with phenolic compounds (**A**), and aroma compounds (**B**). In total there are 4 fermentations across 4 treatments and triplicate replication. Treatments are: Beer P (control, 0 g of beet peels/L), (100 g of beet peels/L), Beer B (150 g of beet peels/L) e Beer C (200 g of beet peels/L).

3.6 Principal component analysis 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. 5B). PC1 and PC2 accounted for 64.1% and 24.8% of the variance, respectively, which totals 88.9% of total variability. Therefore, PC1 and PC2 correspond to 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 5B). The first component separates samples Beer B1, Beer B2 and Beer B3, which contains a higher concentration of glycerol, ethanol, acetic acid, epigallocatechin gallate, syringic acid, caquechin, epicatechin, coumaric acid, caffeic acid, gallic acid, delphinidin 3-glucoside, trans-resveratrol, kaempferol 3-glucoside, procyanidin B1 and quercetin 3-glucoside; and also a highest antioxidant activity (ABTS, and DPPH); from Beer P, which contains a higher concentration of caftaric acid, hesperidin, myricetin, chlorogenic acid and rutin.

Second component separates the samples Beer P, Beer B3 e Beer B2, which contains a similarities considering the concentration quercetin 3-glucoside, caftaric acid, ethanol e myricetin, from Beer 1, which contains gallic acid, epicatechin gallate, rutin, coumaric, epicatechin. Both components shows all differences and similarities very well; however, the first component clearly presented that antioxidant activity (ABTS, and DPPH) increased due to the wort supplementation using beet peels.

4. Discussion

Viability is an indicator of fermentation quality/performance, and the final quality of the beer (Ribeiro-Filho et al., 2021). In this study, cell viability was not affected by supplementation with beet peel, except sample B2, which had its yeast viability increased to 88% (Fig. 1). Furthermore, when observed all samples studied, ethanol, and acetic acid increased having a positive correlation; and glycerol content presented a negative correlation with ethanol, which totally unexpected. However, it may occur because supplemented samples increased its antioxidant activity, as a consequence of phenolic compounds increasing, therefore, antioxidant activities may support yeast redox balance (Zhang et al. 2013), and also protected yeast from ethanol toxicity as glycerol generation occurs as a yeast mechanism against ethanol toxicity

(Ribeiro Filho et al. 2021, Zhang et al. 2013). Therefore, wort supplementations with beet peels influenced yeast metabolic activities.

Sugars and oxygen content in solution are two biggest effects that occur during yeast fermentation, which are called the Pasteur Effect (oxygen effect) and the Crabtree effect (sugars effect) (Walker and Stewart 2016, Briggs et al. 2004, De Deken 1966). The Crabtree effect results in a reduction of oxidative phosphorylation, and consequently, a reduction of ATP transport from mitochondria to cytosol due to the reduction of mitochondrial ATP generation (Pfeiffer and Morley 2014, Dashko et al. 2014, Briggs et al. 2004). Moreover, the Crabtree effect is relative to sugar concentration, which enhances the rule of glycolysis pathway and drives carbon units into ethanol production (Walker and Stewart 2016). Therefore, during alcoholic fermentation, the Crabtree effect inhibits the donation of two carbon from pyruvate to mitochondrial Acetyl-CoA, which results in a reduction of tricarboxylic acid (TCA) cycle activity. TCA cycle is an important biosynthetic pathway to build metabolites such as citric acid, alfa-ketoglutarate, succinic acid, succinyl-CoA, and oxaloacetate (Lee et al., 2010). Results reveals that wort supplementation with beet peels influenced in the organic acids formation including citric acid, succinic acid, latic acid, malic acid, and acetic acid (Fig. 2B). Samples B1 (4.9 g/L), B2 (4.9 g/L), and B3 (5.0 g/L) presented higher significant ($p<0.05$) succinic acid content than P (4.1 g/L) (Table S1). Furthermore, B3 (0.47 g/L) contains a high significant ($p<0.05$) concentration of citric acid. Succinic acid and citric acid are important acids generated in the TCA cycle. Sample B1 contains the highest significant ($p<0.05$) concentration of malic acid (0.65 g/L), and lactic acid (0.76 g/L) (Table S1). Sample B2 (0.69 g/L) presents the highest significant ($p<0.05$) concentration of formic acid (Table S1). Therefore, the increase of antioxidant activities by supplementation with beet peels may help to reduce the inhibition of the donation of two carbon from pyruvate to mitochondrial Acetyl-CoA, which results in formation of organic acids from TCA cycle including succinic acid, and citric acid; and also other compounds that be formed by influence of TCA cycle activity (including malic acid and lactic acid).

During fermentation, in parallel to ethanol formation, small portions of acetaldehyde are converted to acetate, which is an acetic acid anion (Turcotte et al. 2010, Smith et al. 2004). Results show that acetic acid content is part of the sum of organic acids evaluated. Sample B3 (1 g/L) presented the highest acetic acid content ($p<0.05$) and sample B1 presented the lowest acetic acid content ($p<0.05$) (Fig. 2B). These results reveals that supplementation with beet peels increase acetic acid generation, and may impact in the esters formation because acetic acid (acetate) is a precursor of cytosolic Acetyl CoA, which regulates flavour generation (including

higher alcohols, short chain fatty acids, esters and fatty acids esters), and also TCA cycle, the glyoxylate cycle, fatty acid synthesis and β -oxidation, amino acid synthesis, and sugar metabolism (Ribeiro-Filho et al. 2021). The cumulation of acetic acid can be an influencer to the fact of yeast viability of all samples were identified below 90% (Fig. 1). Moreover, acetyl-CoA-cytosolic is synthesised by Acs1p or Acs2p (Kocharin and Nielsen 2013, Takahashi *et al.* 2006). Acs2p is mainly responsible for extra-mitochondrial acetyl-CoA production from ethanol (Takahashi *et al.* 2006). Acs1p is repressed at high sugar concentration (Crabtree effect) and contributes to acetyl-CoA synthesis in presence of non-fermentable sugars or during gluconeogenesis (Kocharin and Nielsen 2013, Kratzer and Schuller 1995). Then, wort supplemented with beet peels may influence the Acs1p or Acs2p functions, and may result in an increase of ester compounds concentration.

Volatile esters are a very important group of compounds produced during yeast fermentation because they are flavour-active (Ashraf 2011, Saerens et al. 2010). Esters includes acetate esters and medium-chain fatty acid ethyl esters (FAEE). The first ester group comprises acetate esters (solvent-like aroma), isoamyl acetate (banana aroma), isobutyl acetate (fruity aroma) and phenyl ethyl acetate (roses, honey), which its formations depend on acetyl-CoA, alcohols and their enzymes (ATF1 and ATF2) (Knight, Bull, & Curnow, 2014; Saerens, Delvaux, Verstrepen, & Thevelein, 2010). The second group includes ethyl hexanoate (aniseed, apple-like aroma) and ethyl octanoate (sour apple aroma) and their formation depends on acetyl-CoA, medium-chain fatty acid (MCFA) and their enzymes (EEB1 and EHT1) (Saerens et al. 2010). The results reveal that worts supplemented with beet peels (B1, B2, and B3) generate higher significant ester content (Fig. 3). Sample B3 presented the highest significant content of isoamyl acetate, and 2-methyl-1-butanol. Sample B2 contains the highest significant ethyl decanoate content (Fig. 3). Furthermore, the increase of ester are influenced by increasing of higher alcohol formation, which reveals that supplementation with beet peels may influence the amino acids consumption via Ehrlich pathway (Hazelwood et al. 2008; Vidal *et al.* 2014).

In this study, the majority phenolic compounds measured increased in samples supplemented with beet peels, except caftaric acid, gallic acid, and epicatechi gallate, which its highest concentration were identified in the sample control (Fig. 4B). Epicatechin, caquechin, epigallocatechin gallate, kaempferol 3-glucoside, caftaric acid and trans-resveratrol were identified in higher concentrations when wort was supplemented with beet peels (Fig. 4). Among all phenolic compounds evaluated flavonoids and tannis are associated to its nutritional value, beneficial health effects, antimicrobial, antioxidant and anticancer properties (Khan *et al.* 2022, Jayaraman & Shanmugam, 2014). In this way, the increase of phenolic compounds

result in an increase of antioxidant activity. Therefore, using beet peels as an adjunct favored the increase in antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods because beet peels contain a high quantity of phenolic compounds. At last, results obtained demonstrate that the supplementation of the BP provided an increase of bioactive compounds, which influenced in the fermentation performance, and consequently, improved aroma profile, phenolic content and antioxidant potential of wort and beer; furthermore, sensory characteristics and shelf-life may increase in the product.

This study demonstrates an understanding of BP utilisation as a brewing adjunct. Therefore, the antioxidant activity was improved as a consequence of the phenolic compounds content. Ethanol and acetic acid increased, and glycerol reduced as a consequence of BP supplementation. Our findings indicate that BP supplementation may have an influence in the Ehrlich pathway due to the presence of the phenolic compound groups including flavonoids, and tannins, which influence in the amount of antioxidant compounds/oxidant activity presented in worts supplemented. Further works are required to determine all influence precisely. Our manuscript creates a paradigm for future studies of the activation of yeast enzymes in ester pathways by the influence of phenolic compounds.

5. Conclusion

The influence of wort supplementation with BP on volatile compounds, phenolic compounds, and antioxidant activity was studied. Wort supplementation with BP increased the generation of ethanol, acetic acid, and aroma. BP supplementation reduced glycerol formation. Wort supplemented with BP may influence Ehrlich pathway, and the Crabtree effect. BP supplementation magnified the antioxidant activity (DPPH and ABTS methods), and phenolic composition. In this study, gallic acid, epicatechin, catechin, epigallocatechin gallate, kaempferol 3-glucoside, caffeic acid and trans-resveratrol present the highest correlation with antioxidant capacity (DPPH and ABTS methods).

Credit authorship contribution statement

Lys Alves Gabriela Correia-Lima: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Software, Validation, Visualization, Writing – original draft, Writing - review & editing. **José Renato Da-Silva:** 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>.
- 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>

Ceclu, L. & Nistor, O. (2020). Red Beetroot: Composition and Health Effects - A Review. *Journal of Nutritional Medicine and Diet Care*. Volume 6 | Issue 1. 6:043. DOI: 10.23937/2572-3278.1510043

Coelho, E. M., da Silva Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Sá, A. G. B., Pereira, G. E., de Azevêdo, L. C., & dos Santos Lima, M. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 160-167.

Dack, R. E., Black, G. W., Koutsidis, G., & Usher, S. J. (2017). The effect of Maillard reaction products and yeast strain on the synthesis of key higher alcohols and esters in beer fermentations. *Food Chemistry*, 232, 595–601. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.043>.

De Deken, R. H. (1966). The Crabtree Effect: A Regulatory System in Yeast. *Journal of General Microbiology*, 44(2), 149–156. <http://doi.org/10.1099/00221287-44-2-149>

De Oliveira, S. P. A., do Nascimento, H. M. A., Sampaio, K. B., & de Souza, E. L. (2020). A review on bioactive compounds of beet (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) with special emphasis on their beneficial effects on gut microbiota and gastrointestinal health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 2022–2033. doi:10.1080/10408398.2020.1768510

Fernandez, M. V. Bengardino, M., Jagus, R. J., & Agüero, M. V. (2020). Enrichment and preservation of a vegetable smoothie with an antioxidant and antimicrobial extract obtained from beet by-products. *Lwt*, v. 117, p. 108-622, 2020.

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>

Habschied, K.; Živković, A.; Krstanović, V.; Mastanjević, K. (2020). Functional Beer — A Review on Possibilities. *Beverages*, v. 6, n. 3, p. 51. doi:10.3390/beverages6030051

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.

Jayamani, J.; Shanmugam, G. (2014). Gallic acid, one of the components in many plant tissues, is a potential inhibitor for insulin amyloid fibril formation. *European journal of medicinal chemistry*, v. 85, p. 352-358, 2014.

Khan, M. R., Volpe, S., Salucci, E., Sadiq, M. B., & Torrieri, E. (2022). Active caseinate/guar gum films incorporated with gallic acid: Physicochemical properties and release kinetics. *Journal of Food Engineering*, 335, 111190.

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>.

Kocharin, K. and Nielsen, J. (2013). Specific growth rate and substrate dependent polyhydroxybutyrate production in *Saccharomyces cerevisiae*. *AMB Express*, 3(1), p.18.

- Kratzer, S. and Schüller, H. (1995). Carbon source-dependent regulation of the acetyl-coenzyme A synthetase-encoding gene ACSI from *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 161(1), pp.75-79.
- Lee Y, Jang J, Kim K, Maeng P (2011). TCA cycle-independent acetate metabolism via the glyoxylate cycle in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 28(2):153 – 166.
- 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
- Lipinski, B., Hanson, C., Waite, R., Searchinger, T., Lomax, J., & Kitinoja, L. (2013). Installment 2 of “creating a sustainable food future” reducing food loss and waste. World resources institute (pp. 1–40).
- 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>.
- Pfeiffer, T. and Morley, A. (2014). An evolutionary perspective on the Crabtree effect. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 1.
- Ribeiro-Filho, N., Linforth, R., Powell, C. D., & Fisk, I. D. (2021a). Influence of essential inorganic elements on flavour formation during yeast fermentation. *Food Chemistry*, 361, 130025. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130025>.
- Ribeiro-Filho, N., Akepach, P., & Sanchez de Alsina, O. L. (2021b). Hygroscopicity and isosteric heat of cashew apple waste, non-fermented and fermented. *Food Bioscience*, 42, 101103. doi:10.1016/j.fbio.2021.101103
- Rufino, M. S. M., Fernandes, A.N., Alves, R. E., Brito, E. S.d (2008). Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH{radical dot} system. *Food Chemistry*, v. 114, n. 2, p. 693–695. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.098>
- 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>.
- Santagata, R., Ripa, M., Genovese, A., & Ulgiati, S. (2020). Food waste recovery pathways: challenges and opportunities for an emerging bio-based circular economy. A systematic review and an assessment. *Journal of Cleaner Production*, 125490. doi:10.1016/j.jclepro.2020.125490
- Pietrocola, F., Galluzzi, L., Bravo-San Pedro, J. M., Madeo, F., & Kroemer, G. (2015). Acetyl coenzyme A: A central metabolite and second messenger. *Cell Metabolism*, 21(6), 805–821. <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.014>

- 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>
- Takahashi, H., McCaffery, J., Irizarry, R., & Boeke, J. (2006). Nucleocytosolic AcetylCoenzyme A Synthetase Is Required for Histone Acetylation and Global Transcription. *Molecular Cell*, 23(2), 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.05.040>.
- Galdieri, L., Zhang, T., Rogerson, D., Lleshi, R. and Vancura, A. (2014). Protein Acetylation and Acetyl Coenzyme A Metabolism in Budding Yeast. *Eukaryotic Cell*, 13(12), pp.1472-1483.
- 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.
- Vidal, E., de Moraes Junior, M., François, J., & de Billerbeck, G. (2014). Biosynthesis of higher alcohol flavour compounds by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: Impact of oxygen availability and responses to glucose pulse in minimal growth medium with leucine as sole nitrogen source. *Yeast*, 32, 47–56. <https://doi.org/10.1002/yea.3045>.
- Walker, G. and Stewart, G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), p.30. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1311-5>

SUPPLEMENTARY DATA

SUPPLEMENTARY: Full date 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 of beet peel/L), Beer B (150 g of beet peel/L), and Beer C (200 g of beet peel/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.

Table S1. Ethanol, glycerol and organic acids obtained from treatments evaluated including Beer P (control), Beer A (100 g of beet peel/L), Beer B (150 g of beet peel/L), and Beer C (200 g of beet peel/L).

Compounds	Beers			
	Control	Beer B1	Beer B2	Beer B3
Ethanol (g/L)	56.5 ^{bc} ± 3.5	54.5 ^c ± 2.2	61.6 ^a ± 3.0	60.3 ^{ab} ± 2.1
Glycerol (g/L)	3.5 ^b ± 0.1	4.0 ^a ± 0.12	3.2 ^c ± 0.1	3.5 ^b ± 0.1
<i>Organic acids (g/L)</i>				
Citric acid	0.49 ^a ± 0.01	0.29 ^c ± 0.01	0.37 ^b ± 0.01	0.47 ^a ± 0.01
Acetic acid	0.83 ^c ± 0.02	0.77 ^c ± 0.02	0.93 ^b ± 0.03	1.03 ^a ± 0.01
Malic acid	0.44 ^c ± 0.01	0.65 ^a ± 0.01	0.52 ^b ± 0.01	0.52 ^a ± 0.01
Succinic acid	4.1 ^b ± 0.1	4.9 ^a ± 0.2	4.9 ^a ± 0.2	5.0 ^a ± 0.2
Latic acid	0.19 ^b ± 0.006	1.76 ^a ± 0.005	0.20 ^b ± 0.006	0.22 ^b ± 0.007
Formic acid	0.57 ^c ± 0.02	0.54 ^c ± 0.002	0.69 ^a ± 0.02	0.64 ^b ± 0.02
Propionic acid	0.56 ^a ± 0.02	0.51 ^b ± 0.01	0.52 ^b ± 0.01	0.56 ^{ab} ± 0.02
ΣQuantified acids	7.15^c ± 0.21	9.39^a ± 0.28	8.17^b ± 0.24	8.45^b ± 0.25

Table S2. Abundance relative (% of total area) of volatile compounds identified by HS-SPME-GC-MS method. Treatments evaluated are Beer P (control), Beer B1 (100 g of beet peel/L), Beer B2 (150 g of beet peel/L), and Beer B3 (200 g of beet peel/L). All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.

	Compound	CAS	RI Lit	RI Cal.	Chemical Class	Abundance relative (%)			
						P	B1	B2	B3
1	Hexanoic acid	142-62-1	990	993	ACID	0.48 ^b ± 0.04	0.05 ^c ± 0.01	0.93 ^a ± 0.07	0.95 ^a ± 0.14
2	Octanoic acid	124-07-2	1180	1177	ACID	0.07 ^c ± 0.02	0.18 ^b ± 0.01	0.27 ^a ± 0.03	0.04 ^c ± 0.00
3	Dodecanoic acid	143-07-7	1568	1569	ACIDO	0.72 ^a ± 0.01	0.09 ^b ± 0.01	0.69 ^a ± 0.03	0.01 ^c ± 0.00
4	2-Methyl-1-butanol	137-32-6	739	<800	ALCOHOL	13.82 ^c ± 0.19	7.77 ^d ± 0.22	15.02 ^b ± 0.35	20.42 ^a ± 0.28
5	2-Ethyl-1-hexanol	104-76-7	1030	1034	ALCOHOL	0.01 ^b ± 0.00	0.01 ^b ± 0.00	0.02 ^b ± 0.01	0.10 ^a ± 0.10
6	1-Octanol	111-87-5	1071	1075	ALCOHOL	0.08 ^b ± 0.01	0.06 ^b ± 0.01	0.10 ^{ab} ± 0.02	0.12 ^a ± 0.02
7	β-Phenethyl alcohol	60-12-8	1116	1110	ALCOHOL	27.2 ^a ± 0.38	21.87 ^b ± 1.05	20.78 ^{bc} ± 0.20	19.07 ^c ± 0.90
8	1-Nonanol	143-08-8	1173	1174	ALCOHOL	0.01 ^a ± 0.00	0.01 ^{ab} ± 0.00	0.01 ^b ± 0.00	0.00 ^b ± 0.00
9	1-Decanol	112-30-1	1273	1275	ALCOHOL	0.20 ^a ± 0.02	0.25 ^a ± 0.06	0.23 ^a ± 0.05	0.25 ^a ± 0.02
10	1-Dodecanol	112-53-8	1473	1476	ALCOHOL	0.03 ^a ± 0.02	0.05 ^a ± 0.02	0.04 ^a ± 0.01	0.05 ^a ± 0.01
11	1-Hexadecanol	36653-82-4	1860	1867	ALCOHOL	0.04 ^a ± 0.02	-	-	0.01 ^{ab} ± 0.00
12	Benzeneacetaldehyde	122-78-1	1045	1044	ALDEIDO	0.04 ^a ± 0.02	0.04 ^a ± 0.01	0.04 ^a ± 0.04	0.04 ^a ± 0.01
13	Hexadecanal	629-80-1	1817	1811	ALDEIDO	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.00	-	0.01 ^a ± 0.01
14	Isobutyl acetate	110-19-0	771	<800	ESTER	0.11 ^a ± 0.01	0.01 ^b ± 0.00	0.01 ^b ± 0.00	0.02 ^b ± 0.01
15	Ethyl butanoate	105-54-4	802	804	ESTER	0.02 ^b ± 0.00	0.04 ^a ± 0.02	0.04 ^a ± 0.02	0.05 ^a ± 0.01
16	Isoamyl acetate	123-92-2	876	879	ESTER	1.69 ^c ± 0.02	1.73 ^c ± 0.48	2.67 ^b ± 0.12	4.55 ^a ± 0.27
17	Ethyl hexanoate	123-66-0	1000	1004	ESTER	0.40 ^c ± 0.04	0.57 ^{bc} ± 0.17	0.83 ^{ab} ± 0.17	1.13 ^a ± 0.13
18	Ethyl heptanoate	106-30-9	1097	1100	ESTER	-	-	-	0.02 ^a ± 0.01
19	Ethyl benzoate	93-89-0	1171	1172	ESTER	0.03 ^a ± 0.00	0.03 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.02

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 (%)			
						P	B1	B2	B3
20	Ethyl octanoate	106-32-1	1196	1203	ESTER	23.57 ^b ± 0.14	27.48 ^a ± 0.22	23.97 ^b ± 0.38	27.82 ^a ± 1.68
21	β-Phenethyl acetate	103-45-7	1258	1262	ESTER	15.91 ^a ± 0.5	11.82 ^b ± 0.43	8.79 ^c ± 0.50	11.06 ^b ± 0.83
22	Propyl octanoate	624-13-5	1290	1295	ESTER	-	-	-	0.05 ^a ± 0.01
23	Ethyl nonanoate	123-29-5	1296	1298	ESTER	-	0.05 ^a ± 0.09	0.02 ^a ± 0.03	0.02 ^a ± 0.02
24	Ethylphenyl propanoate	2021-28-5	1353	1352	ESTER	0.05 ^a ± 0.00	0.07 ^a ± 0.02	0.01 ^a ± 0.00	0.1 ^a ± 0.06
25	Citronellol acetate	150-84-5	1354	1355	ESTER	0.02 ^a ± 0.00	0.05 ^a ± 0.03	0.02 ^a ± 0.01	0.05 ^a ± 0.05
26	Ethyl 9-decenoate	67233-91-4	1387	1391	ESTER	6.85 ^a ± 0.07	2.06 ^b ± 0.89	4.56 ^{ab} ± 0.20	6.52 ^a ± 0.43
27	Ethyl decanoate	110-38-3	1396	1402	ESTER	4.76 ^d ± 0.74	19.08 ^b ± 0.12	21.51 ^a ± 0.81	7.94 ^d ± 0.05
28	β-Phenethyl n-butanoate	103-52-6	1447	1445	ESTER	0.02 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.00	0.01 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.00
29	2-Methylbutyl octanoate	67121-39-5	1449	1452	ESTER	0.03 ^a ± 0.01	0.11 ^a ± 0.08	0.07 ^a ± 0.04	0.19 ^a ± 0.12
30	Ethyl 3-hydroxytridecanoate	107141-15-1	1539	1536	ESTER	0.04 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.01	0.04 ^a ± 0.00	0.04 ^a ± 0.01
31	Isobutyl decanoate	30673-38-2	1546	1547	ESTER	0.03 ^a ± 0.01	0.04 ^a ± 0.02	0.04 ^a ± 0.02	0.06 ^a ± 0.02
32	Ethyl dodecanoate	106-33-2	1595	1598	ESTER	2.98 ^a ± 0.36	3.92 ^a ± 0.33	3.04 ^a ± 0.54	1.89 ^b ± 0.17
33	Phenethyl hexanoate	6290-37-5	1650	1646	ESTER	0.32 ^a ± 0.01	0.54 ^a ± 0.13	0.34 ^a ± 0.11	0.55 ^a ± 0.09
34	Isoamyl decanoate	2306-91-4	1656	1651	ESTER	0.02 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.03	0.03 ^a ± 0.01
35	Ethyl tridecanoate	28267-29-0	1687	1695	ESTER	0.01 ^a ± 0.01	-	-	-
36	Methyl 2,6,10-trimethyltridecanoate	73105-76-7	1764	1759	ESTER	0.01 ^b ± 0.01	0.01 ^{ab} ± 0.01	0.01 ^{ab} ± 0.00	0.05 ^a ± 0.02
37	Ethyl tetradecanoate	124-06-1	1794	1795	ESTER	0.24 ^a ± 0.00	0.13 ^c ± 0.02	0.12 ^c ± 0.03	0.18 ^b ± 0.01
38	Farnesyl acetate	4128-17-0	1843	1844	ESTER	0.02 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.02	0.02 ^a ± 0.01
39	2-Phenethyl octanoate	5457-70-5	1851	1850	ESTER	0.06 ^a ± 0.02	0.05 ^{ab} ± 0.01	0.02 ^b ± 0.01	0.05 ^{ab} ± 0.01
40	Ethyl pentadecanoate	41114-00-5	1894	1895	ESTER	0.02 ^a ± 0.00	0.01 ^a ± 0.00	0.01 ^a ± 0.00	0.02 ^a ± 0.01
41	Ethyl 9-hexadecenoate	54546-22-4	1977	1975	ESTER	0.05 ^a ± 0.02	-	-	-

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 (%)			
						P	B1	B2	B3
42	Ethyl hexadecanoate	628-97-7	1993	1995	ESTER	0.22 ^a ± 0.04	0.07 ^b ± 0.02	0.08 ^b ± 0.03	0.04 ^b ± 0.01
43	4-Vinylguaiaicol	7786-61-0	1317	1316	FENOL	0.87 ^b ± 0.06	0.83 ^b ± 0.07	0.61 ^c ± 0.08	1.31 ^a ± 0.10
44	2,4-di-t-Butylphenol	96-76-4	1519	1514	FENOL	0.24 ^b ± 0.08	0.51 ^a ± 0.08	0.03 ^c ± 0.01	0.08 ^c ± 0.02
45	3-Phenylundecane	4536-87-2	1667	1669	HIDROCARBONETO	0.05 ^{ab} ± 0.02	0.04 ^{ab} ± 0.02	0.03 ^b ± 0.02	0.06 ^a ± 0.01
46	2-Phenylundecane	4536-88-3	1708	1704	HIDROCARBONETO	0.01 ^a ± 0.00	0.01 ^a ± 0.01	0.01 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.00
47	γ-Nonalactone	104-61-0	1363	1365	LACTONA	0.11 ^a ± 0.00	0.11 ^a ± 0.02	0.10 ^a ± 0.05	0.12 ^a ± 0.01
48	Pyranone	28564-83-2	1151	1150	PIRANO	0.08 ^a ± 0.04	0.01 ^b ± 0.01	-	-
49	1,4-Oxathiane	15980-15-1	882	903	SULFURADO	0.04 ^a ± 0.01	0.02 ^a ± 0.02	0.03 ^a ± 0.02	0.03 ^a ± 0.01
50	p-Cymenene	1195-32-0	1090	1088	TERPENO	0.01 ^a ± 0.00	-	-	0.02 ^a ± 0.01
51	β-Famesene	18794-84-8	1457	1459	TERPENO	0.07 ^c ± 0.03	0.12 ^{bc} ± 0.02	0.14 ^{ab} ± 0.02	0.18 ^a ± 0.01
52	Curcumene	644-30-4	1483	1486	TERPENO	0.04 ^a ± 0.01	0.05 ^a ± 0.01	0.03 ^a ± 0.02	0.06 ^a ± 0.02
53	α-Selinene	473-13-2	1494	1496	TERPENO	0.21 ^a ± 0.03	0.11 ^b ± 0.03	0.22 ^a ± 0.01	0.22 ^a ± 0.04
54	α-Farnesene	502-61-4	1508	1510	TERPENO	0.03 ^a ± 0.01	0.06 ^{ab} ± 0.00	0.04 ^{ab} ± 0.01	0.08 ^a ± 0.02
55	trans-Calamenene	73209-42-4	1529	1528	TERPENO	0.02 ^a ± 0.00	0.01 ^b ± 0.00	0.01 ^b ± 0.00	0.02 ^{ab} ± 0.01
56	E-Nerolidol	40716-66-3	1564	1566	TERPENO	-	0.04 ^{ab} ± 0.01	0.01 ^b ± 0.00	0.09 ^a ± 0.04
57	Cadalene	483-78-3	1674	1680	TERPENO	0.02 ^a ± 0.00	0.01 ^{ab} ± 0.01	0.01 ^b ± 0.00	0.01 ^{ab} ± 0.01

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 obtained from treatments evaluated including Beer P (control), Beer A (100 g of beet peel/L), Beer B (150 g of beet peel/L), and Beer C (200 g of beet peel/L).

Antioxidant activity (mmol TEAC/L)	Beers			
	Control	B1	B2	B3
DPPH	8.60 ^c ± 0.49	11.90 ^b ± 0.17	12.26 ^a ± 0.01	12.30 ^a ± 0.05
ABTS	16.58 ^d ± 0.04	20.87 ^c ± 0.61	23.04 ^b ± 0.67	24.50 ^a ± 0.51

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 of control beer and in the beers produced with 100 g/L (Beer B1), 150 g/L (Beer B2) and 200 g/L (Beer B3) of beet peel. All data is present: average of concentration, Tukey test and standard deviation.

Phenolic compounds (mg/L)	Beer			
	Control	B1	B2	B3
<i>Flavonols</i>				
Caquechin	0.18 ^c ± 0.01	0.34 ^{ab} ± 0.02	0.39 ^b ± 0.02	0.65 ^a ± 0.02
Epicatechin	1.02 ^b ± 0.03	1.43 ^a ± 0.04	1.40 ^a ± 0.04	1.36 ^a ± 0.04
Epigallocatechin gallate	0.21 ^c ± 0.01	0.33 ^a ± 0.01	0.44 ^b ± 0.01	0.38 ^c ± 0.01
Epicatechin gallate	0.21 ^d ± 0.01	0.27 ^c ± 0.01	0.25 ^a ± 0.01	0.20 ^b ± 0.01
Myricetin	0.44 ^a ± 0.02	0.13 ^c ± 0.004	0.27 ^b ± 0.01	0.09 ^c ± 0.07
Quercetin 3-glucoside	0.30 ^c ± 0.01	0.27 ^d ± 0.01	0.34 ^b ± 0.01	0.38 ^a ± 0.01
Kaempferol 3-glucoside	0.09 ^d ± 0.003	0.28 ^c ± 0.01	0.33 ^b ± 0.01	0.67 ^a ± 0.03
Rutin	0.05 ^a ± 0.001	0.05 ^a ± 0.001	0.04 ^c ± 0.001	0.04 ^b ± 0.001
Hesperidin	0.49 ^a ± 0.01	n.d.	n.d.	n.d.
Delphinidin 3-glucoside	n.d.	n.d.	n.d.	0.12 ^a ± 0.004
Σ Quantified flavonols	2.99^c ± 0.10	3.10^{bc} ± 0.11	3.45^b ± 0.11	3.89^a ± 0.19
<i>Tannins</i>				
Procyanidin A2	3.10 ^a ± 0.09	2.54 ^d ± 0.08	2.43 ^c ± 0.07	2.11 ^b ± 0.06
Procyanidin B1	0.18 ^b ± 0.01	0.34 ^b ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.65 ^a ± 0.02
Σ Quantified tannins	3.26^a ± 0.10	2.89^b ± 0.09	2.81^b ± 0.08	2.75^b ± 0.12
<i>Hydroxybenzoic acids</i>				
Gallic acid	7.83 ^c ± 0.20	12.02 ^a ± 0.60	11.28 ^a ± 0.11	9.12 ^b ± 0.27
Syringic acid	n.d.	0.41 ^c ± 0.01	0.49 ^b ± 0.01	0.62 ^a ± 0.02
Σ Quantified hydroxybenzoic acids	7.83^c ± 0.20	12.43^a ± 0.61	11.78^a ± 0.13	9.74^b ± 0.30
<i>Hydroxycinnamic acids</i>				
Coumaric acid	n.d.	0.09 ^b ± 0.003	0.11 ^a ± 0.003	0.06 ^c ± 0.002
Caffeic acid	n.d.	0.09 ^c ± 0.003	0.15 ^b ± 0.004	0.21 ^a ± 0.01
Caftaric acid	0.77 ^a ± 0.02	0.40 ^c ± 0.01	0.40 ^c ± 0.01	0.49 ^b ± 0.02
Chlorogenic acid	1.14 ^a ± 0.03	1.07 ^a ± 0.03	1.11 ^a ± 0.05	1.05 ^a ± 0.04
Σ Quantified hydroxycinnamic acids	1.92^a ± 0.06	1.66^b ± 0.06	1.76^b ± 0.07	1.81^{ab} ± 0.07
<i>Stilbenes</i>				
Trans-resveratrol	n.d.	n.d.	0.12 ± 0.004	0.13 ^a ± 0.004
Σ Quantified phenolics	15.99^c ± 0.40	20.06^a ± 0.82	19.80^a ± 0.33	18.19^b ± 0.61

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 volatile compounds

Variables	Ethanol	Glycerol	Acetic acid	Octanoic acid	2-Methyl-1-butanol	1-Nonanol	1-Decanol	1-Dodecanol	1-Hexadecanol	Benzeneacetaldehyde	Hexadecanal	Isoamyl acetate	Ethyl hexanoate	Ethyl heptanoate	Ethyl benzoate	Ethyl octanoate	Ethylphenyl propanoate	Ethyl 9-decenoate	Ethyl decanoate	β -Phenethyl n-butoate	Ethyl 3-hydroxytridecanoate	Ethyl dodecanoate	Ethyl tridecanoate	Octadecane	1,4-Oxathiane
Ethanol	1	0,110	0,140	0,997	0,344	0,272	0,512	0,861	0,745	0,227	0,353	0,593	0,712	0,578	0,751	0,797	0,441	0,926	0,981	0,180	0,994	0,219	1,000	0,248	0,734
Glycerol	-0,890	1	0,382	0,910	0,407	0,665	0,958	0,678	0,936	0,481	0,428	0,968	0,462	0,924	0,827	0,373	0,258	0,985	0,927	0,022	0,587	0,430	0,903	0,130	0,469
Acetic acid	0,860	-0,618	1	0,553	0,143	0,143	0,360	0,630	0,862	0,420	0,742	0,255	0,662	0,178	0,677	0,867	0,942	0,509	0,693	0,540	0,893	0,018	0,683	0,301	0,696
Octanoic acid	0,003	-0,090	-0,447	1	0,265	0,845	0,978	0,973	0,408	0,563	0,251	0,547	0,401	0,263	0,741	0,832	0,275	0,006	0,076	0,720	0,734	0,399	0,082	0,606	0,421
2-Methyl-1-butanol	0,656	-0,593	0,857	-0,735	1	0,516	0,805	0,950	0,607	0,888	0,849	0,528	0,247	0,265	0,821	0,832	0,900	0,206	0,269	0,585	0,643	0,069	0,259	0,128	0,273
1-Nonanol	-0,728	0,335	-0,857	0,155	-0,484	1	0,059	0,234	0,396	0,197	0,543	0,104	0,805	0,225	0,236	0,477	0,977	0,844	0,876	0,780	0,402	0,230	0,879	0,742	0,770
1-Decanol	0,488	-0,042	0,640	-0,022	0,195	-0,941	1	0,068	0,222	0,230	0,567	0,099	0,503	0,318	0,070	0,253	0,902	0,989	0,679	0,958	0,168	0,465	0,675	0,917	0,471
1-Dodecanol	0,139	0,322	0,370	-0,027	-0,050	-0,766	0,932	1	0,223	0,447	0,778	0,146	0,318	0,400	0,048	0,069	0,657	0,958	0,645	0,612	0,054	0,716	0,633	0,595	0,291
1-Hexadecanol	-0,255	-0,064	-0,138	-0,592	0,393	0,604	-0,778	-0,777	1	0,192	0,275	0,558	0,148	0,926	0,070	0,412	0,740	0,370	0,157	0,991	0,107	0,965	0,154	0,555	0,136
Benzeneacetaldehyde	-0,773	0,519	-0,580	-0,437	-0,112	0,803	-0,770	-0,553	0,808	1	0,104	0,517	0,617	0,751	0,264	0,784	0,440	0,588	0,407	0,476	0,444	0,585	0,417	0,834	0,598
Hexadecanal	-0,647	0,572	-0,258	-0,749	0,151	0,457	-0,433	-0,222	0,725	0,896	1	0,954	0,623	0,803	0,502	0,893	0,161	0,293	0,239	0,339	0,656	0,921	0,253	0,891	0,620
Isoamyl acetate	0,407	0,032	0,745	-0,453	0,472	-0,896	0,901	0,854	-0,442	-0,483	-0,046	1	0,798	0,076	0,276	0,242	0,578	0,582	0,891	0,811	0,359	0,281	0,898	0,931	0,761
Ethyl hexanoate	-0,288	0,538	-0,338	0,599	-0,753	-0,195	0,497	0,682	-0,852	-0,383	-0,377	0,202	1	0,829	0,220	0,321	0,970	0,323	0,166	0,557	0,119	0,532	0,153	0,153	0,001
Ethyl heptanoate	0,422	-0,076	0,822	-0,737	0,735	-0,775	0,682	0,600	-0,074	-0,249	0,197	0,924	-0,171	1	0,594	0,455	0,489	0,278	0,527	0,878	0,691	0,140	0,531	0,667	0,865
Ethyl benzoate	0,249	0,173	0,323	0,259	-0,179	-0,764	0,930	0,952	-0,930	-0,736	-0,498	0,724	0,780	0,406	1	0,193	0,948	0,687	0,400	0,810	0,033	0,812	0,393	0,594	0,198
Ethyl octanoate	-0,203	0,627	0,133	-0,168	-0,168	-0,523	0,747	0,931	-0,588	-0,216	0,107	0,758	0,679	0,545	0,807	1	0,375	0,926	0,790	0,305	0,113	0,903	0,771	0,406	0,300
Ethylphenyl propanoate	-0,559	0,742	-0,058	-0,725	0,100	0,023	0,098	0,343	0,260	0,560	0,839	0,422	0,030	0,511	0,052	0,625	1	0,355	0,476	0,138	0,799	0,935	0,496	0,653	0,959
Ethyl 9-decenoate	0,074	-0,015	0,491	-0,994	0,794	-0,156	-0,011	-0,042	0,630	0,412	0,707	0,418	-0,677	0,722	-0,313	0,074	0,645	1	0,052	0,825	0,658	0,355	0,056	0,508	0,342
Ethyl decanoate	0,019	0,073	-0,307	0,924	-0,731	-0,124	0,321	0,355	-0,843	-0,593	-0,761	-0,109	0,834	-0,473	0,600	0,210	-0,524	-0,948	1	0,919	0,386	0,518	0,000	0,447	0,175
β -Phenethyl n-butoate	-0,820	0,978	-0,460	-0,280	-0,415	0,220	0,042	0,388	-0,009	0,524	0,661	0,189	0,443	0,122	0,190	0,695	0,862	0,175	-0,081	1	0,587	0,607	0,943	0,230	0,558
Ethyl 3-hydroxytridecanoate	0,006	-0,413	-0,107	-0,266	0,357	0,598	-0,832	-0,946	0,893	0,556	0,344	-0,641	-0,881	-0,309	-0,967	-0,887	-0,201	0,342	-0,614	-0,413	1	0,989	0,373	0,383	0,102
Ethyl dodecanoate	-0,781	0,570	-0,982	0,602	-0,931	0,770	-0,535	-0,284	-0,035	0,415	0,079	-0,719	0,468	-0,860	-0,188	-0,097	-0,065	-0,645	0,482	0,393	-0,011	1	0,509	0,258	0,566

Ethyl tridecanoate	0,000	-0,097	0,317	-0,918	0,741	0,121	-0,325	-0,367	0,846	0,583	0,747	0,102	-0,847	0,469	-0,607	-0,229	0,504	0,944	-1,000	0,057	0,627	-0,491	1	0,427	0,162
Octadecane	-0,752	0,870	-0,699	0,394	-0,872	0,258	0,083	0,406	-0,445	0,166	0,109	-0,069	0,848	-0,333	0,406	0,594	0,347	-0,492	0,553	0,770	-0,617	0,742	- 0,573	1	0,165
1,4-Oxathiane	0,266	-0,531	0,304	-0,579	0,727	0,230	-0,529	-0,709	0,864	0,402	0,380	-0,239	-0,999	0,135	-0,802	-0,700	-0,041	0,658	-0,825	-0,442	0,898	-0,434	0,838	- 0,835	1

Table S6. Correlation matrix (Pearson (n)) among phenolic compounds

Variables	Ethanol	Glycerol	Acetic acid	DPPH	ABTS	Gallic acid	Syringic acid	Hesperidin	Procyanidin B1	Catechin	Epicatechin gallate	Epicatechin	Epigallocatechin gallate	Caftaric acid	Chlorogenic acid	Caffeic acid	Coumaric acid	Trans-resveratrol	Myricetin	Quercetin 3-Glucoside	Rutin	Kaempferol 3-glucoside	Delphinidin 3-glucoside
Ethanol	1	0,110	0,135	0,558	0,376	0,934	0,463	0,648	0,433	0,685	0,666	0,752	0,291	0,734	0,766	0,312	0,659	0,054	0,903	0,126	0,044	0,450	0,578
Glycerol	-0,890	1	0,375	0,953	0,783	0,755	0,888	0,960	0,860	0,854	0,655	0,883	0,580	0,939	0,766	0,717	0,904	0,306	0,637	0,349	0,281	0,877	0,924
Acetic acid	0,865	-0,625	1	0,562	0,319	0,722	0,377	0,650	0,178	0,492	0,382	0,792	0,445	0,835	0,522	0,199	0,878	0,072	0,658	0,001	0,091	0,179	0,184
DPPH	0,442	-0,047	0,438	1	0,044	0,282	0,031	0,005	0,237	0,074	0,618	0,030	0,080	0,047	0,122	0,117	0,110	0,344	0,142	0,596	0,344	0,258	0,614
ABTS	0,624	-0,217	0,681	0,956	1	0,513	0,006	0,076	0,102	0,070	0,899	0,143	0,083	0,174	0,115	0,019	0,247	0,173	0,174	0,348	0,181	0,118	0,402
Gallic acid	-0,066	0,245	-0,278	0,718	0,487	1	0,475	0,229	0,889	0,490	0,083	0,144	0,373	0,105	0,541	0,690	0,087	0,944	0,473	0,692	0,918	0,916	0,675
Syringic acid	0,537	-0,112	0,623	0,969	0,994	0,525	1	0,054	0,102	0,038	0,857	0,113	0,111	0,151	0,074	0,033	0,242	0,235	0,120	0,410	0,245	0,117	0,402
Hesperidin	-0,352	-0,040	-0,350	-0,995	-0,924	-0,771	-0,946	1	0,282	0,078	0,546	0,011	0,112	0,028	0,122	0,163	0,096	0,424	0,127	0,687	0,423	0,303	0,667
Procyanidin B1	0,567	-0,140	0,822	0,763	0,898	0,111	0,898	-0,718	1	0,106	0,710	0,391	0,332	0,465	0,110	0,045	0,605	0,201	0,186	0,204	0,231	0,001	0,112
Catechin	0,315	0,146	0,508	0,926	0,930	0,510	0,962	-0,922	0,894	1	0,855	0,129	0,257	0,189	0,007	0,097	0,334	0,402	0,025	0,531	0,423	0,113	0,353
Epicatechin gallate	-0,334	0,345	-0,618	0,382	0,101	0,917	0,143	-0,454	-0,290	0,145	1	0,419	0,690	0,357	0,897	0,907	0,295	0,703	0,795	0,363	0,738	0,686	0,344
Epicatechin	0,248	0,117	0,208	0,970	0,857	0,856	0,887	-0,989	0,609	0,871	0,581	1	0,149	0,007	0,173	0,254	0,064	0,536	0,158	0,829	0,530	0,413	0,799
Epigallocatechin gallate	0,709	-0,420	0,556	0,920	0,917	0,627	0,889	-0,888	0,668	0,743	0,310	0,851	1	0,132	0,340	0,143	0,110	0,188	0,399	0,465	0,172	0,360	0,727
Caftaric acid	-0,266	-0,061	-0,165	-0,953	-0,826	-0,895	-0,849	0,972	-0,535	-0,811	-0,643	-0,993	-0,868	1	0,244	0,298	0,029	0,547	0,228	0,869	0,535	0,491	0,898
Chlorogenic acid	-0,234	-0,234	-0,478	-0,878	-0,885	-0,459	-0,926	0,878	-0,890	-0,993	-0,103	-0,827	-0,660	0,756	1	0,134	0,410	0,467	0,011	0,562	0,493	0,113	0,317
Caffeic acid	0,688	-0,283	0,801	0,883	0,981	0,310	0,967	-0,837	0,955	0,903	-0,093	0,746	0,857	-0,702	-0,866	1	0,383	0,116	0,212	0,225	0,130	0,056	0,274
Coumaric acid	0,341	-0,096	0,122	0,890	0,753	0,913	0,758	-0,904	0,395	0,666	0,705	0,936	0,890	-0,971	-0,590	0,617	1	0,543	0,401	0,906	0,518	0,636	0,931
Trans-resveratrol	0,946	-0,694	0,928	0,656	0,827	0,056	0,765	-0,576	0,799	0,598	-0,297	0,464	0,812	-0,453	-0,533	0,884	0,457	1	0,592	0,078	0,002	0,216	0,377
Myricetin	-0,097	-0,363	-0,342	-0,858	-0,826	-0,527	-0,880	0,873	-0,814	-0,975	-0,205	-0,842	-0,601	0,772	0,989	-0,788	-0,599	-0,408	1	0,700	0,617	0,189	0,400
Quercetin 3-Glucoside	0,874	-0,651	0,999	0,404	0,652	-0,308	0,590	-0,313	0,796	0,469	-0,638	0,171	0,535	-0,131	-0,438	0,775	0,094	0,922	-0,300	1	0,095	0,205	0,199
Rutin	-0,956	0,719	-0,909	-0,656	-0,819	-0,082	-0,755	0,577	-0,769	-0,577	0,262	-0,470	-0,828	0,465	0,507	-0,870	-0,482	-0,998	0,383	-0,905	1	0,247	0,423

Kaempferol 3-glucoside	0,550	-0,123	0,821	0,742	0,882	0,084	0,883	-0,697	0,999	0,887	-0,314	0,587	0,640	-0,509	-0,887	0,944	0,364	0,784	-0,811	0,795	-0,753	1	0,096
Delphinidin 3-glucoside	0,422	-0,076	0,817	0,386	0,598	-0,325	0,598	-0,333	0,888	0,647	-0,656	0,201	0,273	-0,102	-0,683	0,726	-0,070	0,623	-0,600	0,801	-0,577	0,904	1

5. CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados demonstrados neste estudo sobre a Cerveja artesanal com adição de casca de beterraba (*Beta vulgaris*), pode-se concluir que:

- ✓ A viabilidade celular não sofreu influência com a adição das cascas de beterraba, deste modo, as variações encontradas nos produtos finais, estão associadas a suplementação do mosto com o adjunto, assim como sua geração a partir de metabólitos da levedura.
- ✓ O enriquecimento do mosto com o adjunto, aumentou as concentrações de etanol e ácidos orgânicos, bem como houve a redução do glicerol nas 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.
- ✓ A suplementação das cervejas com cascas de beterraba, ocasionou a elevação da capacidade antioxidante e consequentemente na concentração de compostos fenólicos, especialmente no teor de procianidina B1, ácido gálico e equicatequina, confirmando o potencial bioativo das cascas de beterraba como adjunto, resultando no aumento da vida de prateleira das cervejas e em propriedades benéficas à saúde.
- ✓ As cervejas com adjunto se destacaram pela abundância de compostos voláteis, os ésteres são marcadores importantes para o perfil aromático de cervejas, destacando-se octanoato de etila, hexanoato de etila, decanoato de etila, acetato de isoamila, etila dodecanoato, heptanoato de etila, ácido octanóico.
- ✓ De modo geral, as cervejas B1 e B2 apresentaram maior concentração de compostos fenólicos, a cerveja B1 obteve maior concentração de ácidos orgânicos e a amostra B3 maior atividade antioxidante pelo método DPPH e ABTS.
- ✓ A **suplementação de BP ampliou a** atividade antioxidante (métodos DPPH e ABTS) e composição fenólica.
- ✓ A adição de cascas de beterraba na composição da cerveja como adjunto cervejeiro foi positiva, pois potencializou a composição bioativa e perfil volátil da bebida.

