

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA
FERMENTAÇÃO COM ADIÇÃO DE PRODUTOS DA COLMEIA DE
Apis mellifera L.**

PATRICIA DIAS DE OLIVEIRA

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
JULHO - 2019**

**CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA
FERMENTAÇÃO COM ADIÇÃO DE PRODUTOS DA COLMEIA DE
Apis mellifera L.**

PATRICIA DIAS DE OLIVEIRA

Tecnóloga em Alimentos

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, 2015

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Fitotecnia).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

Coorientadora: Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JULHO - 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

O48c Oliveira, Patricia Dias de.
Caracterização de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de produtos da colmeia de *Apis mellifera* L. / Patricia Dias de Oliveira._ Cruz das Almas, BA, 2019.
84f.; il.

Orientador: Carlos Alfredo Lopes de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

1.Cerveja – Tecnologia dos alimentos. 2.Fermentação – Produtos apícolas. 3.Análise sensorial – Avaliação.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 663.42

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.
Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).
Os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA
FERMENTAÇÃO COM ADIÇÃO DE PRODUTOS DA COLMEIA DE
*Apis mellifera L.***

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
PATRÍCIA DIAS DE OLIVEIRA**

Realizada em: 10 de julho de 2019

Prof (a). Dr. (a). Fabiane Lima Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Interno

Prof (a). Dr. (a). Marcia Luciana Cazetta
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Externo

Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Examinador Externo (Coorientadora)

Aos meus pais Edmilson Dias de Sousa e Maria do Carmo de O. Sousa, e em especial a minha avó Terezinha Maria de Oliveira pelo exemplo e amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele não chegaria até aqui.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho, pela confiança que proporcionou meu crescimento profissional e a realização deste trabalho.

À minha Coorientadora Dra. Samira Maria Peixoto Cavalcante da Silva pela inestimável orientação, colaboração, confiança, paciência e compreensão.

Agradeço ao meu esposo Weliton, pela paciência, compreensão, companheirismo e pelo amor incondicional que amenizou as dificuldades encontradas para a conclusão deste trabalho.

Agradeço à minha mãe, que me deu suporte e incentivo nessa etapa da minha vida, torcendo e acreditando sempre em mim. A toda minha família que torceu e acreditou em mim.

Aos colegas do Núcleo de Estudos dos Insetos - INSECTA, que apoiaram nos momentos de dificuldades e dúvidas. Em especial, Ana Cátia, Rodrigo, Suellen, Carla, Paula, Cátia Lucas e Adailton.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Agrárias do Centro de Ciência Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) pela oportunidade para minha formação.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) (Código Financeiro 001) pela concessão da bolsa de que tornou possível a realização desse Mestrado.

A todos que, de certa forma contribuíram de alguma maneira para a conclusão desse trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
REFERENCIAL TEÓRICO	1
ARTIGO 1	
Caracterização físico-química e sensorial de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de pólen apícola desidratado.....	25
ARTIGO 2	
Caracterização físico-químicas e sensorial de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de mel multifloral de <i>Apis mellifera</i>	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

CARACTERIZAÇÃO DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA FERMENTAÇÃO COM ADIÇÃO DE PRODUTOS DA COLMEIA DE *Apis mellifera* L.

Autor: Patricia Dias de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

RESUMO: Entre as possibilidades de uso dos produtos apícolas, como mel e pólen, em associação com outros produtos comerciais, encontra-se a produção de cervejas artesanais com atributos sensoriais diferenciados. O mel é um alimento rico em açúcares fermentescíveis, tornando-se uma matéria-prima favorável à fermentação alcoólica. Por sua vez, o pólen apícola pode ser utilizado para aumentar o valor nutritivo, econômico e também otimizar o processo fermentativo de bebidas por ser um produto rico em proteínas e minerais que servem de nutrientes importantes para as leveduras durante a fermentação alcoólica. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar cervejas com adição de produtos da colmeia (mel e pólen) de *Apis mellifera*. Para a cerveja com adição de pólen apícola desidratado foram elaboradas cinco formulações com diferentes concentrações progressivas (0, 2,5, 5, 7,5 e 10 g/litro de mosto cervejeiro). O tratamento a maior quantidade de pólen (10 g L⁻¹) apresentou maior conversão de açúcar em álcool, além de apresentar um aumento no teor de fenóis e flavonoides totais. Para cerveja com adição de mel em diferentes etapas foram elaborados quatro tratamentos (controle, fervura, fermentação e priming). As cervejas adicionadas de mel obtiveram maior teor alcoólico e maior grau de fermentação, apresentando características de uma bebida de alta qualidade. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que cervejas produzidas com adição dos produtos da colmeia podem se destacar como um atrativo ao consumidor por se tratar de um produto de alto valor nutricional.

Palavras-chave: Abelhas sociais, Fermentação alcoólica, Mel, Pólen.

CHARACTERIZATION OF HIGH FERMENTATION CRAFT BEERS WITH ADDITION OF BEEHIVE PRODUCTS OF *Apis mellifera* L.

Author: Patricia Dias de Oliveira

Adviser: Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho

ABSTRACT: Among uses of beekeeping products, such as honey and pollen, in association with other commercial products is the production of craft beers with different sensory attributes. Honey is rich in fermentable sugars, allowing its use as raw material for alcoholic fermentation. In turn, bee pollen could be used to increase the nutritional and economic value and optimize the fermentation process of beverages, because bee pollen is rich in proteins and minerals that serve as important nutrients for yeast during alcoholic fermentation. This study aimed to characterize beers with the addition of *Apis mellifera* hive products (honey and pollen). For the beer with dehydrated bee pollen, we prepared five formulations with different progressive concentrations (0, 2.5, 5, 7.5 and 10 g / liter of must). The treatment with the highest amount of pollen (10 g L⁻¹) showed higher conversion of sugar to alcohol, besides presenting an increase in the phenol and total flavonoid content. For the beer with the honey added in different stages, four treatments were elaborated (control, boiling, fermentation and priming). The beers with added honey had higher alcohol content and higher fermentation degree, presenting characteristics of a high quality drink. The results obtained in this study suggest that beers produced with the addition of beehive products may be attractive to consumers because, it is has high nutritional value.

Keywords: Social bees, Alcoholic fermentation, Honey, Pollen.

REFERENCIAL TEÓRICO

Os serviços ecossistêmicos de polinização são essenciais para a produção de alimentos. Aproximadamente 75% das plantas que são base da alimentação humana, dependem direta ou indiretamente da atuação de polinizadores (KLEIN et al., 2007; OLLERTON et al., 2011), particularmente do serviço prestado pelas abelhas sociais, como *Apis mellifera*, a espécie polinizadora mais importante (AIZEN et al., 2009). Nesse cenário, a criação de abelhas sociais surge como uma importante atividade agropecuária.

Entretanto, nos últimos anos observa-se um declínio nas populações de abelhas, com perda de grande quantidade de colmeias. Esses eventos podem estar relacionados à fragmentação de habitats e práticas agrícolas agressivas (desmatamento, uso de agrotóxicos), dentre outros fatores, que promovem o isolamento desses insetos das áreas naturais (GOULSON et al., 2008; RICKETTS et al., 2008; POTTS et al., 2010), levando assim um desestímulo da atividade de criação de abelhas (apicultura).

Embora a polinização tenha um valor ecológico e econômico mais elevado (POTTS et al., 2010), o mel, a própolis e o pólen são os produtos da colmeia mais explorados pelos apicultores, sendo o mel o principal deles (IMPERATRIZ-FONSECA et al., 2012; JAFFÉ et al., 2015). A comercialização desses produtos constitui uma importante atividade econômica para diversificação da produção agrícola, principalmente para a agricultura familiar, e a utilização desses produtos associados a produtos comerciais pode estimular a criação de abelhas e promover um aumento na atividade apícola.

PÓLEN

O pólen é composto por pequenos grãos, com estrutura microscópica. E tem um papel fundamental no processo de fertilização das plantas, pois protegem o gametófito masculino durante o transporte entre a estrutura reprodutiva masculina para a feminina, gerando assim a formação de frutos e sementes (SILVA et al., 2010; ARRUDA et al., 2013).

Para as abelhas e outros insetos os grãos de pólen coletados nas flores é a principal fonte proteica e lipídica. É um alimento essencial para alimentação das

crias, o desenvolvimento dos demais indivíduos e a manutenção da colônia (GOODMAN, 2003; FREITAS et al., 2013). O pólen também pode ser utilizado na alimentação humana, onde é conhecido como pólen apícola.

De acordo com Satler e Almeida-Muradian (2016), esse produto apresenta propriedades sensoriais bem definidas, com cores variando entre branco, amarelo, laranja, vermelho e algumas tonalidades mais escuras. Segundo os autores essas variações de cores, dependem de fatores como origem botânica e composição química.

A Instrução Normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001, define pólen apícola como o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuada pelas abelhas operárias, pela adição de néctar e suas substâncias salivares, e é coletado na entrada da colmeia (BRASIL, 2001).

O pólen apícola é um produto com alto valor nutritivo, principalmente por ser rico em proteínas, vitaminas e minerais, lipídios, carboidratos e alguns compostos bioativos e antioxidantes, como polifenóis, carotenóides (beta-caroteno) e flavonóides (flavonas, isoflavonas, flavonóis e/ou antocianinas) (NOGUEIRA-NETO 1997; MELO; ALMEIDA-MURADIAN et al., 2017; MELO et al., 2018). Essas características colocam o pólen na categoria de alimento funcional, ou seja, aqueles que além de suas funções nutricionais proporcionam benefícios à saúde (KARABAGIAS et al., 2018).

Além de seu uso na medicina alternativa o pólen apícola possui alto potencial na indústria alimentícia na produção de alimentos funcionais (CONTE et al., 2018). Estudos apontam que o pólen apícola tem demonstrado ações antifúngicas, antimicrobianas e antivirais (KOMOSINSRA-VASSEK et al., 2015), além de atuar na prevenção de vários tipos de câncer (OMAR et al., 2016).

Há registros da utilização de pólen apícola na elaboração de bebida não fermentada a partir do soro de leite bovino. A presença do pólen na bebida contribuiu, principalmente, para o aumento do valor proteico. Sugerindo que o pólen pode ser utilizado para enriquecer outros produtos alimentícios (SILVA et al., 2010). Roldán et al. (2011), estudando o efeito de diferentes concentrações de pólen (de 10 a 50 g L⁻¹) nas características físico-químicas e sensoriais de hidromel, observaram que o pólen contribuiu para uma fermentação mais eficiente, aumentando o rendimento de álcool e produzindo um hidromel mais aceito sensorialmente.

Yerlikaya (2014) estudou os efeitos de pólen apícola sobre as propriedades antimicrobianas, químicas, reológicas, sensoriais e a viabilidade probiótica de bebidas lácteas fermentadas. Os resultados foram positivos nas taxas de inibição contra bactérias como *Salmonella thyphimurium* e *Escherichia coli*. Além de efeitos positivos na viabilidade dos probióticos e aumento da viscosidade aparente. Entretanto, os produtos não tiveram aceitação sensorial satisfatória.

Em um estudo sobre a influência de diferentes tipos de pólen apícola em bebidas maltadas foi observado que o pólen proporcionou uma maior atividade antioxidante e maior conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides. Os mesmos autores afirmam também que o pólen pode ser usado como matéria-prima para a indústria cervejeira (SOLGAJOVÁ et al., 2014).

Em suco cítrico, a adição de pólen apícola contribuiu para um incremento no conteúdo total de polifenóis e na atividade antioxidante (STAN, 2018). Resultados similares foram observados em iogurte com adição de pólen, quando comparados a iogurtes convencionais. Além disso, o sabor, odor, aparência e coesão do produto também melhoraram (KARABAGIAS et al., 2018).

MEL

O mel é definido como um fluido viscoso, aromático e doce elaborado, a partir do néctar das flores e de secreções de partes vivas de determinadas plantas, ou ainda, de excreções de insetos sugadores de plantas, que as abelhas melíferas coletam, transformam, combinam e deixam maturar nos favos das colmeias (BRASIL, 2000). Na alimentação humana o mel é utilizado desde a antiguidade e apreciado pelo seu sabor característico, considerável valor nutricional e por ser dotado de diversas propriedades terapêuticas, sendo utilizado pelo conhecimento popular em associação com fitoterápicos (VILLAS-BÔAS, 2012).

Na elaboração de bebidas fermentadas o mel é utilizado desde a antiguidade, sendo o hidromel a mais conhecida (BRUNELLI et al., 2014). Ao ser utilizado na elaboração de bebidas, o mel promove um aumento do teor alcoólico das mesmas, em função sua alta capacidade de fermentação (KUNZE, 2006; OLIVEIRA et al., 2015).

O mel possui atributos que o torna matéria prima ideal para fabricação de cerveja também, pois apresenta elevado conteúdo de açúcares fermentescíveis e de substâncias aromáticas (KUNZE, 2006). O mesmo sugere que o mel seja adicionado na etapa de fervura, como fornecedor de extrato, favorecendo sua esterilização, ou antes do envase da bebida, para adocicá-la e aromatizá-la.

Países como a Inglaterra, Canadá, Estados Unidos e Argentina comercializam cervejas com mel. No Brasil a cervejaria Colorado produz e comercializa uma bebida alcoólica mista a base de cerveja de trigo e mel, indicando o potencial da utilização de mel como adjunto cervejeiro (BRUNELLI; VENTURINI FILHO, 2014).

Além disso, estudos atestam que formulações de cervejas com adição ou substituição parcial do malte por mel possuem boa aceitação sensorial (OLIVEIRA et al., 2015). Esses autores estudaram a substituição de mosto por solução de mel em diferentes proporções, sugerem que o mel pode contribuir para a conservação da cerveja, visto que formulações de cerveja em que parte do mosto cervejeiro foi substituído por mel na proporção de 20 e 30% proporcionaram cervejas com menor valor de pH. A avaliação da adição de mel de diferentes floradas como adjunto cervejeiro na proporção de 35% no extrato do mosto permitiu verificar que a adição do mel promove maior acidez, eleva o teor de açúcares residuais e produz cervejas com menor luminosidade e tons mais amarelados (KEMPKA et al., 2017).

CERVEJA

A cerveja é uma das bebidas fermentadas mais antigas do mundo, produzida pelos sumérios e assírios há cerca de 8 mil anos. Foi descoberta de forma acidental, quando a massa de pão foi esquecida ao ar livre, umedecida e fermentada. Foi então chamada de pão líquido e produzida por mulheres para consumo doméstico (HOUGH, 1990; ROSA; AFONSO, 2015). Para os antigos babilônicos a cerveja era uma parte importante da economia, sendo utilizada para pagar outros produtos e impostos (HORNSEY, 2016).

A partir do século VIII, os monges começaram a produzir a bebida em grandes quantidades e também a utilizar novos ingredientes, como a adição de lúpulo. Historiadores afirmam que os monges da idade média são responsáveis por muitas inovações cervejeiras, como a adição do lúpulo e armazenamento a frio (LI et

al., 2017). Na idade média, diversas ervas eram utilizadas para aromatizar as cervejas, resultando em diferentes tipos de cervejas (HOUGH, 1990; ROSA; AFONSO, 2015).

No mercado a cerveja, é a bebida alcoólica mais consumida no mundo. Em 2013, a produção de cerveja no Brasil chegou a 13.937 milhões de litros, colocando o país na lista dos maiores consumidores e produtores no mundo, ficando atrás somente da China e Estados Unidos da América. Entretanto, no que se refere ao consumo *per capita* o país ocupa apenas a 24ª posição no consumo mundial, com consumo médio de 67 litros/cerveja/habitante/ano (CERVIERI JÚNIOR et al., 2016).

Não existe uma classificação definitiva para os vários estilos de cervejas existentes, sendo determinado pela legislação de cada país e de suas tradições relacionadas ao consumo da bebida. Estima-se que existe no mercado mais de 20 mil tipos de cervejas, essas diferenças ocorrem devido a pequenas mudanças feitas no processo de fabricação, como diferentes tempos e temperaturas e o uso de ingredientes diferentes (DRAGONE et al., 2016). No Quadro 1 é apresentada um sumário dos principais tipos de cerveja existentes no mundo, conforme Boulton e Quain (2008), Strong e England (2015) e Dragone et al. (2016).

Nos últimos anos, tem-se observado um aumento no consumo *per capita* de cerveja no Brasil. Isso se deve ao aumento da renda dos consumidores e pelo incremento na diversificação de marcas e produtos (STEFENON, 2012). Nesse cenário, as cervejas artesanais, com atributos sensoriais especiais e diferenciados apresentam potencial de crescimento no mercado nacional (GONÇALVES, 2009).

As cervejas artesanais são bebidas produzidas em pequena escala e com alguma diferenciação quando comparada com as cervejas comerciais mais populares. A elaboração desses produtos tem como foco a qualidade dos seus ingredientes, produzindo variados tipos de cerveja que são cuidadosamente elaboradas, conferindo melhores características sensoriais, como o aroma e sabor e, geralmente, são produzidas sem aditivos químicos, como estabilizantes, corantes e aromatizantes (KLEBAN; NICKERSON, 2012).

Quadro 1. Estilos de cerveja clássicos (Adaptado de BOULTON; QUAIN, 2008; STRONG; ENGLAND, 2015; e DRAGONE et al., 2016).

Tipo de Cerveja	Origem	Coloração	Teor Alcoólico	Fermentação	Descrição
Pilsen	República Checa	Clara	5%	Baixa	Lager pálida muito lupulada, produzida com água suave.
Dortmunder	Alemanha	Clara	5,2%	Baixa	Lager de cor dourada, menos lupulada que a Pilsner.
Bock	Alemanha	Escura	5,5 - 7,5%	Baixa	Cerveja castanho escuro forte, levemente lupulada.
Dunkel	Alemanha	Escura	4,5 – 5,6%	Baixa	<i>Lager</i> escura, maltada e levemente lupulada.
Helles	Alemanha	Clara	4 - 6%	Baixa	Versão mais pálida da <i>Dunkel</i>
<i>Bitter Ale</i>	Reino Unido	Clara	3,5 - 5,5%	Alta	<i>Ale</i> amarga de cor pálida acastanhada
<i>Brown Ale</i>	Reino Unido	Escura	3,5 - 4,5%	Alta	<i>Ale</i> adocicada, corpo inteiro e ligeiramente lupulada.
<i>India Pale Ale</i>	Reino Unido	Clara	5,5 - 7,5%	Alta	<i>Ale</i> fortemente amarga
<i>Kölsch</i>	Alemanha	Clara	4,6%	Alta	<i>Ale</i> dourada muito lupulada com paladar ácido/láctico
<i>Lambic</i>	Bélgica	-	4 - 6,5%	Espontânea	Cerveja azeda
Weiss	Alemanha	Clara	4,0 – 5,6%	Alta	Cerveja de trigo ligeiramente lupulada, gosto fenólico.
<i>Gueze</i>	Bélgica	-	5 - 5,5%	Refermentação em garrafa	Mistura de <i>Lambics</i> novas e envelhecidas. Cerveja seca e frutada.

Quadro 1. Estilos de cerveja clássicos (Adaptado de BOULTON; QUAIN, 2008; STRONG; ENGLAND, 2015; e DRAGONE et al., 2016) (continuação).

Tipo de Cerveja	Origem	Coloração	Teor Alcoólico	Fermentação	Descrição
Porter	Inglaterra	Escura	6 – 7%	Alta	Ale de cor ruby intensa, feita com água londrina, alta em bicarbonato
Smoked	Alemanha	Escura	4,5 – 7%	Baixa	Cerveja escura com paladar fumado.
Saison	Bélgica	-	5,5 – 6%	Alta	Ale de cor âmbar, muito aromática.
<i>Scotch Ale</i>	Escócia (Reino Unido)	Escura	7 – 10%	Baixa	Ale castanha escura, fortemente doce, paladar cremoso.
Stout	Inglaterra	Escura	4 – 5%	Alta	Cerveja muito escura e muito lupulada.
<i>Trappist</i>	Abadias belgas e holandesas	Clara	5 – 12%	Alta	Cervejas de cor âmbar e castanha, diferentes intensidades aromáticas.

Em comparação com consumidores de cervejas tradicionais, os consumidores de cervejas artesanais são mais exigentes em relação à aparência, sabor e aroma. Esses consumidores são mais suscetíveis a experimentar novas marcas e estilos de cerveja seu valor não é o principal fator de decisão para compra de produtos (DIAS; LEITE, 2017).

No mercado cervejeiro existe uma divisão entre os tipos de cervejaria de acordo com a capacidade de produção e a tradição de cada uma delas, sendo divididas entre: as megacervejarias comerciais – com produção superior a 10 bilhões de litros/ano e que concentram a maior parte do mercado mundial; as cervejarias grandes e tradicionais – produção superior a 1 bilhão de litros/ano e caracterizadas por produtos de melhor qualidade; e as microcervejarias – com produção inferior a 1.760.000 litros/ano e que visam a produção de bebidas com diferencial local, geralmente vendendo o argumento de tradição e/ou qualidade diferenciada (MORADO, 2009).

Algumas microcervejarias se autodenominam cervejarias artesanais, mas nem toda cervejaria artesanal é microcervejaria. As cervejarias artesanais são

caracterizadas por serem independentes, tradicionais e não muito grandes (BREWERS ASSOCIATION, 2013).

Matéria prima cervejeira

No Brasil, a padronização, classificação, registro, inspeção e a fiscalização da produção e comercialização da cerveja é regulamentada pelo Decreto n. 6.871, de 4 de julho de 2009 e a Lei de nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que fixam às normas para a produção e comercialização de bebidas (BRASIL, 2009).

O Artigo 36º desta Lei define que a cerveja é constituída essencialmente do malte de cevada e água potável, fermentado pela ação de leveduras cervejeiras e adição de lúpulo. Parte do malte de cevada pode ser substituída por adjuntos cervejeiros, cujo emprego não poderá ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo. O extrato primitivo é constituído pela quantidade de ingredientes diferentes da água utilizadas na preparação da cerveja, no qual pelo menos de 55% deve ser malte de cevada.

Diversos materiais são utilizados na elaboração das cervejas, conforme descritos a seguir.

Água

É a matéria prima usada em maior quantidade na produção da cerveja. Dessa maneira, a água deve apresentar boa qualidade e composição química adequada. A água cervejeira não pode conter grande quantidade de sais dissolvidos, pois estes influenciam diretamente nos processos químicos e enzimáticos que ocorrem durante a fermentação e conseqüentemente na qualidade do produto final (DRAGONE et al., 2016).

Além disso, a água utilizada no processo cervejeiro deve cumprir os padrões de potabilidade, apresentar alcalinidade igual ou menor a 50 mg L⁻¹ (preferencialmente inferior a 25 mg L⁻¹) e possuir concentração de cálcio em torno de 50 mg L⁻¹ (VENTURINI FILHO, 2010).

Malte

É um termo técnico usado para definir a matéria prima resultante da germinação de qualquer cereal (cevada, arroz, milho, trigo, aveia, sorgo, triticale,

etc.) em condições controladas. O malte mais usado na produção de cerveja é obtido da cevada (*Hordeum vulgare*), após a colheita os grãos são armazenados em silos, sob condições controladas de temperatura e umidade, e enviados para maltaria, indústria de transformação do grão em malte. Na maltaria, as sementes são colocadas em condições favoráveis à germinação, com temperatura, umidade e aeração controladas. A germinação é interrompida assim que o grão inicia a criação de uma nova planta (DRAGONE et al., 2016).

A cevada é um cereal rico em amido, convertido em dissacarídeos e monossacarídeos como a maltose e glicose, respectivamente, e possui proteínas em quantidade suficiente para fornecer os aminoácidos necessários para proporcionar o crescimento da levedura cervejeira. Essas características, dentre outras, fazem com que o malte de cevada seja o mais utilizado para a fabricação de cerveja (OLIVEIRA, 2011).

As principais enzimas presentes no malte, ativadas durante o processo de malteação, são α -amilase, β -amilase e protease. Essas enzimas desempenham um importante papel na transformação do amido em açúcares que serão consumidos posteriormente pelas leveduras durante o processo de fermentação para a produção de álcool (OETTERER et al., 2006).

Há uma grande diversidade de tipos de malte utilizados na produção de diferentes tipos de cerveja. O malte conhecido como *pilsen*, por exemplo, é o mais utilizado no mundo e produz cervejas claras. Em algumas cervejarias, parte do malte é substituído por outros cereais, como arroz, aveia, milho e trigo, que podem ou não passar pelo processo de malteação e servem como fonte complementar de açúcares para a fermentação (VENTURINI FILHO, 2010).

Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulos*) é uma planta pertencente à família Cannabaceae, com flores ordenadas em espigas que possuem resinas e óleos de sabor amargo que conferem o aroma e o sabor amargo que são característicos da cerveja. Para a fabricação de cerveja são utilizadas flores femininas que contém uma substância essencial para a fabricação de cerveja, a lupulina (OLIVEIRA, 2011). Flores femininas não polinizadas de lúpulo apresentam maior concentração de lupulina, que podem ser comercializadas na forma de flores prensadas, pó, extrato ou *pellets* (SACHS, 2001).

Quando adicionado à cerveja o lúpulo também atua como antisséptico apresentando efeito bacteriostático e contribuindo para a coagulação de proteínas, e estabilidade do sabor e para a retenção de espuma na cerveja acabada (ALMEIDA; SILVA, 2005).

Adjuntos cervejeiros

São definidos como sendo a cevada cervejeira e os demais cereais aptos para o consumo humano, malteados ou não-malteados, bem como os amidos e açúcares de origem vegetal (BRASIL, 2009). De acordo com o tipo de carboidrato predominante em sua composição, os adjuntos podem ser classificados como amiláceos e açucarados. O milho, arroz, cevada, trigo, sorgo e triticales são os cereais mais utilizados como adjuntos cervejeiros adicionados na fase de preparação do mosto. Destes, o milho é o adjunto mais utilizado na indústria cervejeira brasileira (VENTURINI FILHO, 2010).

O adjunto cervejeiro colabora para conferir à cerveja uma alta estabilidade física, maior resistência à turvação a frio, maior brilho e menor turvação. É também responsável por conferir à cerveja cor mais clara, corpo mais leve, sabor e aroma mais suave, uma vez que, com seu uso, ocorre redução das concentrações de extrato do malte (BRIGGS et al., 2004; D'ÁVILA et al., 2012; POREDA et al., 2014).

Levedura cervejeira

Para que ocorra a conversão dos açúcares presentes no mosto cervejeiro em álcool, gás carbônico e outros subprodutos são utilizados fungos unicelulares que se reproduzem vegetativamente por brotamento, chamadas de leveduras, principalmente as do gênero *Saccharomyces*. As leveduras são classificadas em três tipos basicamente: as de alta fermentação, as de baixa fermentação e as selvagens (CARVALHO, 2007).

Segundo Dragone et al. (2016) no processo de fabricação de cerveja as leveduras são classificadas de acordo com seu comportamento durante a fermentação. Assim, no decorrer da fermentação, quando a levedura sobe à superfície do mosto, é denominada “de alta fermentação”; se no final ela decanta, é denominada “de baixa fermentação”.

Existem diversas espécies de leveduras, sendo que duas são de maior importância, a *Saccharomyces cerevisiae* é utilizada para a fabricação das cervejas

ale (de alta fermentação) e produzem cervejas de sabor frutado, complexo e doce, devido a sua ação rápida não consome totalmente os açúcares presentes no malte, enquanto que *S. uvarum* é utilizada para a produção de cervejas com fermentação lenta, popularmente conhecidas como *lager*, produzindo cervejas mais limpas e com sabor seco (EVANGELISTA, 2012). Podemos incluir ainda um terceiro grupo que abrange todos os estilos de cervejas fermentadas de forma espontânea ou inóculos com bactérias e também leveduras de gêneros não-*Saccharomyces* (selvagem ou de fermentação espontânea) (STRONG; ENGLAND, 2015).

Os principais produtos da fermentação são álcool e gás carbônico mas, além desses, outros subprodutos são formados, como ésteres, álcoois superiores, cetonas, fenóis e ácidos graxos podem conferir sabor e aroma às cervejas (PALMER, 2006). O sabor frutado das cervejas pode ser oriundo da presença de ésteres, os fenóis conferem sabor de especiarias e o aroma e paladar amanteigado são provenientes da presença de diacetil (SALIMBENI et al., 2016).

Classificação das Cervejas

As cervejas podem ser classificadas em diferentes parâmetros conforme a legislação brasileira (BRASIL, 2009) em extrato primitivo, cor, teor alcoólico, proporção de malte de cevada e fermentação (Quadro 2).

Quadro 2. Classificação de cervejas de acordo com a Legislação Brasileira (BRASIL, 2009).

Parâmetro	Classificação
Extrato primitivo	Leve (acima de 5,0% até 10,5%)
	Comum (acima de 10,5% até 12,5% em massa)
	Extra (acima de 12,5% até 14,0% em massa)
	Forte (acima de 14,0% em massa)
Cor	Clara (menos de 20 unidades EBC)
	Escura (20 ou mais unidades EBC)
	Colorida (utilização de corantes artificiais)
Teor alcoólico	Sem álcool (menos de 0,5% em volume de etanol)
	Alcoólica (igual ou maior que 0,5% em volume de etanol)

Quadro 2. Classificação de cervejas de acordo com a Legislação Brasileira (BRASIL, 2009). (continuação).

Parâmetro	Classificação
Fermentação	Alta fermentação (12 – 15°C) Baixa fermentação (5 – 10°C)
Proporção de malte de cevada	Cerveja puro malte: 100% de malte de cevada no extrato primitivo Cerveja: proporção de malte de cevada maior ou igual a 55%; Cerveja de “nome do vegetal predominante”: aquela que possui proporção de malte de cevada maior que 20% e menor que 55% do extrato primitivo.

PROCESSO DE ELABORAÇÃO DA CERVEJA

Moagem

A moagem é uma etapa que influencia diretamente na rapidez das transformações físico-químicas, no rendimento, na clarificação e na qualidade do produto final, pois influencia diretamente na solubilização do conteúdo do grão do malte. Tem como objetivo a redução do grão de malte pelo processo físico, com ajuda de um moinho, cortar as cascas dos grãos e aumentar superfície do material, deixando o endosperma exposto à ação enzimática (SOLIS; COSTA, 2013).

O tamanho da casca do malte também influencia na velocidade de filtração após a mosturação, é importante que ela seja apenas rasgada no processo de moagem pois, quando inteira, forma um meio de filtração mais poroso (MATOS, 2011; EVANGELISTA, 2012). Caso a moagem fique muito fina haverá muitas partículas em suspensão, o que aumenta a probabilidade de turvação da cerveja.

Mosturação

É a etapa onde ocorre a mistura de malte moído e água em temperatura controlada, a fim de solubilizar substâncias e fornecer as temperaturas adequadas para ação de cada enzima presente no malte. Esta etapa tem como objetivo recuperar a maior quantidade possível de extrato, no mosto, a partir do malte ou da mistura de malte e adjuntos (VENTURINI FILHO, 2010). A mistura líquida açucarada

composta de malte e adjuntos dissolvidos é denominada de mosto e é a base para a produção de cerveja (PALMER, 2006).

O processo de mosturação, conhecido também como brassagem, depende da temperatura, do tempo, do grau de acidez, da qualidade do malte, da constituição das partículas da moagem e da concentração do meio. A escolha do tipo de brassagem e do programa de tempo/temperatura depende do tipo de cerveja que se quer obter, assim como de seu corpo que depende bastante dos açúcares fermentáveis (VENTURINI FILHO, 2010).

Para a obtenção de um rendimento máximo de extração de açúcares existem faixas ótimas de temperatura e pH para a atividade de cada enzima (BRIGGS et al., 2004), apresentadas no Quadro 3.

Quadro 3. Principais grupos enzimáticos e funções (BRIGGS et al., 2004).

Enzima	Temperatura (°C)	Escala de pH	Função
β -glucanase	35-45	4,5-5,5	Degradação da β -glucanas
Peptidase	45-55	4,6-5,3	Hidrólise de peptídeos
Protease	45-55	4,6-5,3	Hidrólise de proteínas grandes
β -amilase	55-65	5,0-5,5	Hidrólise do amido em maltose
α -amilase	62-72	5,3-5,7	Hidrólise do amido em diversos açúcares incluindo a maltose

Fonte: Adaptado de PALMER (2006).

Filtração e clarificação do mosto

A filtração tem como objetivo a separação entre o mosto e o bagaço do malte, produzindo o mosto primário. Nesta etapa é necessário que seja feita lavagem do filtrado com água a 78°C, a fim de extrair maior quantidade de açúcares que ficaram retidos nas cascas no processo de maturação, formando assim o mosto secundário, rico em taninos e proteínas em quantidade ainda maior que o mosto primário (BREDA, 2016). De acordo com Dragone et al. (2016), essa separação pode ocorrer por diferentes métodos, o mais comum é feito em tina de mosturação.

A clarificação do mosto é feita por recirculação, é nesse momento que ocorre a formação da camada filtrante no fundo da tina de mosturação. Essa camada é formada pelas cascas de malte que são responsáveis pela filtração do mosto,

tornando-o límpido. A recirculação é feita até que o mosto esteja totalmente clarificado (DRAGONE et al., 2016).

A qualidade da cerveja depende bastante destas etapas, diminuindo a turvação excessiva do mosto pela eliminação de sólidos indesejáveis, como cascas, enzimas coaguladas, amido não hidrolisado e outras substâncias que constituem o bagaço. Sendo assim, é aconselhável obter um mosto menos turvo possível para uma cerveja de boa qualidade (CARVALHO, 2007).

Fervura

A fervura do mosto visa inativação de enzimas, esterilização do mosto, coagulação proteica, extração de compostos amargos e aromáticos do lúpulo, formação de substâncias constituintes do aroma e sabor, evaporação de água excedente e de componentes aromáticos ao produto final. Nesta etapa o mosto deve permanecer em temperaturas elevadas de (75-80 °C), para que o risco de contaminação seja diminuindo (DRAGONE et al., 2016).

Terminada a fervura é necessário retirar do mosto os complexos de proteínas, resinas e taninos, denominados *trub*. Para isso, faz-se uso de força centrípeta, ou seja, através da rotação forçada do meio, precipita-se os compostos indesejados no fundo do tanque, manobra chamada de *Whirlpool* (VENTURINI FILHO, 2010).

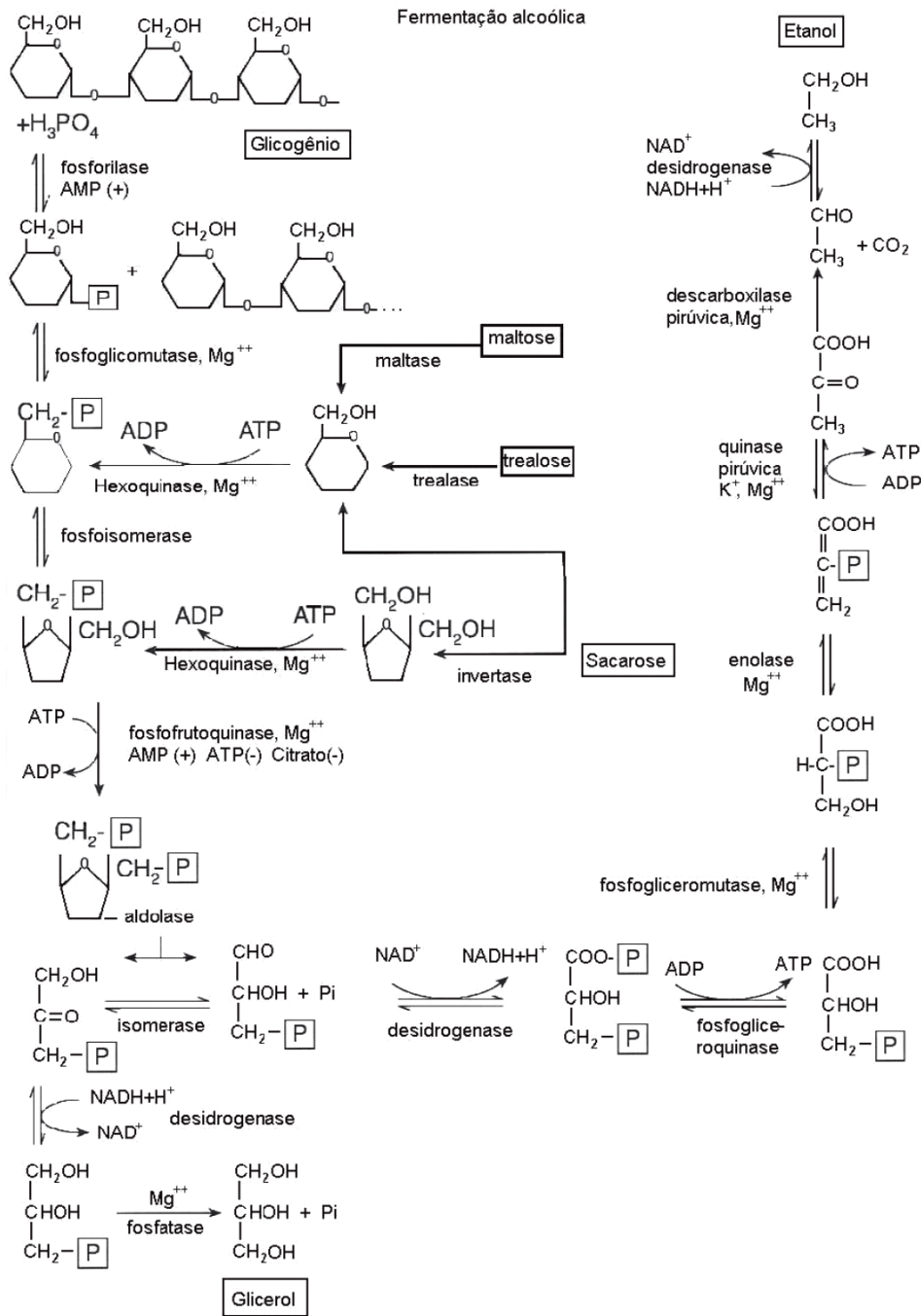
Resfriamento do mosto

O principal objetivo do resfriamento é preparar o mosto para a inoculação das leveduras que vão fermentar o extrato para elaboração das cervejas. A temperatura adequada desta etapa depende do tipo de levedura a ser utilizado, mostos de cervejas tipo *Lager* são resfriados entre 7 e 15°C e os de tipo *Ale* são resfriados em média entre 18 e 22°C, antes da adição da levedura (BREDA, 2016).

Fermentação

O objetivo principal do processo fermentativo é a conversão de açúcares em etanol e gás carbônico pela levedura, em condições anaeróbicas e também a síntese de compostos de aroma e sabor característicos de cerveja (DRAGONE et al., 2016). A conversão do açúcar ocorre a partir de 12 reações ordenadas, catalisadas por enzimas específicas (Figura 1) (LIMA et al., 2001).

Figura 1. Sequência das reações enzimáticas que ocorrem durante a fermentação alcoólica de carboidratos, realizada por *Saccharomyces cerevisiae* (LIMA et al., 2001).



O processo de fermentação tem início com a inoculação das leveduras, que consiste na adição de uma suspensão ideal contendo entre 15 e 20 milhões de células/mililitro de levedura para cada 100 litros de mosto. A inoculação de leveduras

em baixa quantidade acarreta lentidão nas etapas iniciais da fermentação. Entretanto, a inoculação de uma quantidade de leveduras superior ao ideal ocasiona um consumo descontrolado de nutrientes, resultando em um baixo crescimento populacional das leveduras e formando um maior volume de ésteres (ARAÚJO et al., 2003).

Maturação

No final da fermentação primária a cerveja é denominada "cerveja verde", por conter baixa concentração de dióxido de carbono, nesta fase ela ainda não apresenta aroma e sabor característicos de uma cerveja pronta para comercialização. Por isso ela deve ser maturada ou condicionada (BREDA et al., 2016).

A maturação tem como objetivos: refinar sabor e aroma da cerveja pela redução do teor de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico, além do aumento do teor de éster; carbonatar parcialmente o produto (por meio da fermentação secundária); evitar a ocorrência de oxidações que comprometam sensorialmente a bebida; e clarificar o líquido através de deposição do fermento e outros materiais em suspensão (DRAGONE et al., 2016).

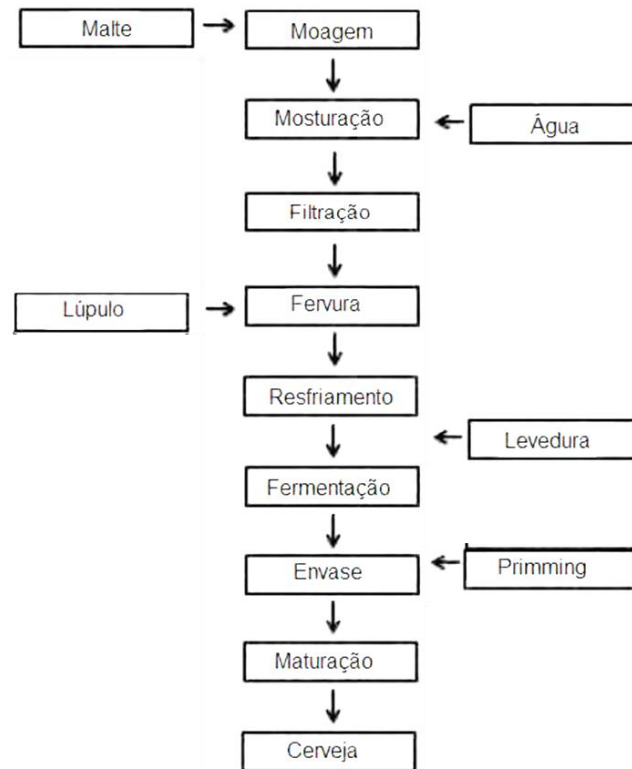
Envase e carbonatação

É o processo de engarrafamento, enlatamento ou embarrilamento do produto final, e é considerada a etapa mais onerosa em uma cervejaria, em termos de matérias-primas e de mão-de-obra (DRAGONE et al., 2016).

Nas cervejarias industriais a carbonatação da cerveja ocorre pela injeção de gás carbônico, artificialmente, no momento do envase; já nas cervejas artesanais a carbonatação ocorre dentro da garrafa pela adição de açúcar refinado à cerveja, processo chamado de *priming*. Utiliza-se entre 3 e 7 g L⁻¹ de açúcar refinado (sacarose), este açúcar será consumido pelas leveduras e produzirão gás carbônico que ficará armazenado no líquido e, conseqüentemente, gaseificando o produto final (PALMER, 2006; VENTURINI FILHO, 2010).

Um fluxograma do processo de produção de cervejas artesanais foi proposto por Palmer (2006) (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma do processo produtivo de cervejas artesanais (Adaptado de PALMER, 2006).



Considerando a importância econômica da produção de cerveja e o potencial de uso dos produtos das colmeias das abelhas no processo de fabricação, esse trabalho teve como principal objetivo elaborar e caracterizar cervejas de alta fermentação com adição de produtos da colmeia. Neste contexto, o trabalho foi dividido nas seguintes etapas:

Artigo 1: Caracterização físico-químicas e sensorial de cervejas de alta fermentação com adição de pólen apícola desidratado e;

Artigo 2: Caracterização físico-químicas e sensorial de cervejas de alta fermentação com adição de mel multifloral de *Apis mellifera*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-SILVA, J.B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. (Coord.). **Tecnologia de bebidas**: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. cap. 15, p. 347-382.
- AIZEN, M.A.; GARIBALDI, L.A.; CUNNINGHAM, S.A.; KLEIN, A.M. How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. **Annals of Botany**, v. 103, n. 09, p. 1579-1588, 2009.
- ARAÚJO, F.B.; SILVA, P.H.A.; MINIM, V.P.R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 121-128, 2003.
- ARRUDA, V. A. S.; PEREIRA, A. A. S.; FREITAS, A. S.; BARTH, O. M.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 100-105, 2013.
- BOULTON, C.; QUAIN, D. **Brewing Yeast and Fermentation**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2008. 660p.
- BRASIL. Decreto n. 6871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n. 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução normativa n. 11, de 20 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel. **Diário Oficial**, Brasília, p.16-17, 20 out. 2000. Seção I.
- BREDA, M.H. Cerveja artesanal. In: VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2016. p. 50-84.
- BREWERS ASSOCIATION. **Craft Brewer Defined**. Disponível em: <
<http://www.brewersassociation.org/statistics/craft-brewer-defined/>>. Acesso em: 03 set. 2018.

BRIGGS, D.E., BROOKES, P.A., STEVENS, R., BOULTON, C.A. **Brewing: science and practice**. Elsevier, 2004.

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

BRUNELLI, L.T.; VENTURINI FILHO, W.G. Análise sensorial de cervejas elaboradas com mel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 2, p. 1579-1591, 2014.

CARVALHO, L. G. **Dossiê Técnico: Produção de Cerveja**. Rio de Janeiro, REDETEC Rede Tecnológica do Rio de Janeiro, 54 p., 2007.

CERVIERI JÚNIOR, O.; TEXEIRA JÚNIOR, J.R.; GALINARI, R.; RAWET, E.L.; SILVEIRA, C.T.J. O setor de bebidas no Brasil, **BNDES Setorial**, v. 40, p. 93-130, 2016.

CONTE, P.; DEL CARO, A.; BALESTRA, F.; PIGA, A.; FADDA, C. Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach, **LTW - Food Science and Technology**, v. 90, p. 1-7, 2018.

D'AVILA, R.F.; LUVIELMO, M.M.; MENDONÇA, C.R.B.; JANTZEN, M.M. Adjuntos utilizados para produção de cerveja: características e aplicações. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 60-68, 2012.

DIAS, J.A.; LEITE, D.B. Cerveja tradicional ou artesanal? Análise dos fatores que influenciam o consumo de cerveja na cidade de Cuiabá – MT. **Revista Agropampa**, v. 2, n. 2, 2017.

DRAGONE, G.; SILVA, T.A.O.; SILVA, J.B.A. Cerveja. *In*: VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2016. p. 50-84.

EBC - EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica – EBC**. 5th ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 2005.

EVANGELISTA, R.R. **Análise do processo de fabricação industrial de cerveja**. São Paulo, Fatec Araçatuba, 2012. 50p.

FREITAS, A.S.; ARRUDA, V.A.S.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; BARTH, O.M. The Botanical Profiles of Dried Bee Pollen Loads Collected by *Apis mellifera* (Linnaeus) in Brazil. **Sociobiology**, v.1, p.56-64, 2013.

HOUGH, J.S. *Biotechnology de la Cerveza y de la Malta*. Espanha: Acribia S.A, 1990. 208p.

GONÇALVES, D. Proporcionalmente mercado de cerveja *Premium* cresce mais que *Pilsen*. **Engarrafador Moderno**, n. 181, p. 15-20, 2009.

GOODMAN, L.J. **Form and function in the honey bee**. Cardiff: International Bee Research Association, 2003. 220 p.

GOULSON, D.; LYE, G.C.; DARVILL, B. Decline and conservation of Bumble Bees. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p.191–208, 2008.

HORNSEY, I.S. Beer: History and Types, *In*: CABALLERO, B.; FINGLAS, P.M.; TOLDRÁ, F. **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, 2016. p. 345-354.

IMPERTRIZ-FONSECA, V.L.; CANHOS, D.A.L.; ALVES, D.A.; SARAIVA, A.M. Polinizadores e Polinização – um tema global. *In*: IMPERATRIZ-FONSECA, V.L., CANHOS, D.; ALVES, D.A.; SARAIVA, A.M. (org). **Polinizadores no Brasil: contribuição e perspectivas para biodiversidade, uso sustentável, conservação e serviços ambientais**. São Paulo, EDUSP, 45, 2012, p. 488.

JAFFÉ, R.; POPE, N.; CARVALHO, A.T.; MAIA, U.M.; BLOCHTEIN, B.; CARVALHO, C.A.L.; CARVALHO-ZILSE, G.A.; FREITAS, B.M. MENEZES, C.; RIBEIRO, M.F.; VENTURIERI, G.C.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Bees for development: Brazilian survey reveals how to optimize stingless beekeeping. **Plos One**, v. 10, n. 03, p. 1-21, 2015.

KARABAGIAS, I.K.; KARABAGIASV.K.; GATZIAS, I.; RIGANAKOS, K.A. Bio-functional properties of bee pollen: the case of “Bee Pollen Yoghurt”. **Coatings**, v. 8, p. 423-438, 2018.

KEMPKA, A.P.; THOMÉ, B.C.; CONTO, R.M.; Produção de cerveja artesanal tipo *ale* utilizando mel de diferentes floradas como adjunto. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 1, p. 105-125, 2017.

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 for Case Studies**, v. 18, n. 3, p. 59–81, 2012.

KLEIN, A.M.; VAISSIÈRE, B.E; CANE, J.H; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 274, n. 1608, v. 303-313, 2007.

KOMOSINSKA-VASSEV, K.; OLCZYK, P.; KAŹMIERCZAK, J.; MENCNER, L.; OLCZYK, K. Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-6, 2015.

KUNZE, W. La cerveza terminada. In: KUNZE, W. **Tecnologia para cerveceros y malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006. cap. 7, p. 826-885.

LI, Q.; WANG, J.; LIU, C. Beers. In: PANDEY, A.; SANROMÁN, M.A.; DU, G.; SOCCOL, C.R.; DUSSAP, C.G. **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**, Elsevier, 2017, p. 305-351.

LIMA, U. A.; BASSO, L.C.; AMORIM, H.V. Produção de Etnanol. In: ALMEIDA-LIMA, U., AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial - Processos Fermentativos e Enzimáticos**, v.3, pp. 01-43. Edgar Blücher, Brasil, 2001.

MEGA, J. F.; NEVES, E.; ANDRADE, C. J. A produção de cerveja no Brasil. **Revista Hestia Ciência, Tecnologia, Inovação e Oportunidade**, v. 1, n. 1, p. 21-29, 2011.

MELO, A.A.M.; ESTEVINHO, L.M.; MOREIRA, M.M.; DELERUE-MATOS, C.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. A multivariate approach based on physicochemical parameters and biological potencial for the botanical and geographical of Brazilian bee pollen. **Food Bioscience**, v. 25, p. 91-110, 2018.

- MELO, A.A.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Chemical composition of bee pollen. *In: ALVAREZ-SUAREZ, J.M. (Ed.) Bee Products - Chemical and Biological Properties*. Berlin: Springer, 2017. p 221-259.
- MORADO, R. **Larousse da cerveja**. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009. 357 p.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão**. São Paulo: Nogueirapis, 446p., 1997.
- OETTERER, M. REGITANO-D'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Manole, 2006, p. 51-98.
- OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? **Oikos**, v. 120, p. 321–326, 2011.
- OLIVEIRA, M.D.; FABER, C.R.; PLATA-OVIEDO, M.S.V. Elaboração de cerveja artesanal a partir da substituição parcial do malte por mel. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, p. 1-10, 2015.
- OLIVEIRA, N.A.M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação de cerveja**. Minas Gerais: UFMG, 2011. 44p.
- OMAR, W. A. W.; AZHAR, N. A.; FADZILAH, N. H.; KAMAL, N. N. S. N. M. Bee pollen extract of Malaysian stingless bee enhances the effect of cisplatin on breast cancer cell lines. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 3, p. 265-269, 2016.
- PALMER, J.J. **How to brew: everything you need to know to brew beer right the first time**. Brewers Publications, 2006.
- POREDA, A., CZARNIK, A., ZDANIEWICZ, M., JAKUBOWSKI, M., ANTKIEWICZ, P. Corn grist adjunct–application and influence on the brewing process and beer quality. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 120, n. 1, p. 77-81, 2014.
- POTTS, S. G.; BIESMEIJER, J. C.; KREMEN, C.; NEUMANN, P.; SCHWEIGER, O.; KUNIN, W. E. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology and Evolution**. v. 25, p. 345-353. 2010.

RICKETTS, T.H.; REGETZ, J.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S.A., KREMEN, C., BOGDANSKI, A., GEMMILL-HERREN, B., GREENLEAF, S.S., KLEIN, A.M., MAYFIELD, M.M., MORANDIN, L.A., OCHIENG, A. VIANA & B. F.. Landscape effects on crop pollination services: are there general patterns? **Ecology Letters**, v. 11, n. 5, p. 499-515, 2008.

ROLDÁN, A.; VAN MUISWINKEL, G. C. J.; LASANTA, C.; PALACIOS, V.; CARO, I. Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 574-582, 2011.

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

SACHS, L.C. **Cerveja**. Paraná, FFALM, 2001. 24p.

SALIMBENI, J.F.; MENEGUETTI, M.P.D.R.R.D.; ROLIM, T.F. **Caracterização da água e sua influência sensorial para a produção de cerveja artesanal**. Campinas, 2016.

SATTLER, J.A.G.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Análise de qualidade de pólen apícola. *In*: GRANATO, D.; NUNES, D.S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. p. 173-192.

SILVA, C. I.; BALLESTEROS, P.L.O.; PALMERO, M.A.; BAUERMANN, S.G.; EVALDT, A.C.P.; OLIVEIRA, P.E. **Catálogo polínico: palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no Triângulo Mineiro**. Uberlândia: EDUFU, 2010. 154p.

SILVA, E.V.C.; MEDEIROS, L.F.P.; MONTEIRO, D.B.; SILVA, G.F. Elaboração de bebida láctea pasteurizada sabor bacuri enriquecida com pólen. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 01, p. 01-09, 2010.

SOLGAJOVÁ, M.; IVANIŠOVÁ, E.; NŮŽKOVÁ, J.; FRANČÁKOVÁ, H.; TÓTH, Ž.; DRÁB, Š. Antioxidant activity and polyphenol content of malt beverages enriched with bee pollen. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 3, n. 3, p. 281-284, 2014.

- SOLIS, J.M.S.; COSTA, P.M. **Estudo do Processo de Fabricação de Cerveja**. 2013. 62p. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia Química. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. 2013.
- STAN, L. Bee pollen as antioxidante ingrediente in ready-to-serve citrus juice. **Scientific papers: Series D, Animal Science**, v. 61, n. 1, p. 312-317, 2018.
- STEFENON, R. Vantagens competitivas na indústria cervejeira: o caso das cervejas especiais. **Revista Capital Científico**, v. 10, p. 1-16, 2012.
- STRONG, G.; ENGLAND, K. **Beer Judge Certification Program 2015 Style Guidelines**. Beer Judge Certification Program, 93, 2015.
- VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas Alcólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010. 461 p.
- VILLAS-BÔAS, J. **Manual Tecnológico: mel de abelhas sem ferrão**. Brasília, DF: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2012. 96p.
- YERLIKAYA, O. Effect of bee pollen supplement on antimicrobial viability of fermented milk beverage. **Mljekarstvo**, v. 64, n. 4, p. 268-279, 2014.

ARTIGO 1

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA FERMENTAÇÃO COM ADIÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

¹ Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico *Food Chemistry*, em versão na língua inglesa

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA FERMENTAÇÃO COM ADIÇÃO DE PÓLEN APÍCOLA DESIDRATADO

RESUMO: A demanda por cervejas artesanais e com adição de ingredientes diferenciados tem aumentado nos últimos anos. Adicionar ingredientes nutricionais em mosto de bebidas fermentadas reduz o tempo de fermentação. A fermentação é uma importante característica para a indústria cervejeira. O pólen apícola é um produto rico em proteína que serve de nutrientes importantes para as leveduras durante a fermentação alcoólica. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e sensoriais de cervejas artesanais elaboradas com diferentes concentrações de pólen apícola desidratado. Foram elaboradas cinco formulações de cerveja com diferentes concentrações progressivas de pólen apícola (T0 = controle; T1 = 2,5; T2 = 5; T3 = 7,5 e T4 = 10 gramas de pólen/litro de mosto cervejeiro). As cervejas foram caracterizadas físico-quimicamente quanto ao teor de sólidos solúveis totais, densidade, açúcar redutor, extrato primitivo, extrato aparente, extrato real, pH, acidez total, cor, cinzas, teor alcoólico, grau de fermentação, compostos fenólicos e flavonoides totais. A cerveja com maior quantidade de pólen apresentou as menores médias para densidade e extrato real, indicando que houve uma melhor conversão do açúcar em álcool, além de favorecer o aumento no teor de fenóis e flavonoides totais nas cervejas analisadas. A adição de pólen apícola nas formulações de cerveja favoreceu a cinética da fermentação, aumentando o teor alcoólico e o grau real de fermentação. De acordo com análise sensorial o produto apresenta potencial de comercialização, pois obtiveram boa aceitação por parte do painel de provadores.

Palavras-chave: *Apis mellifera*, Fermentação, Leveduras, Tipo Ale.

PHYSICAL-CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF HIGH FERMENTATION CRAFT BEERS WITH DEHYDRATED APICULTURAL POLLEN ADDED

ABSTRACT: The demand for craft beers and with the addition of differentiated ingredients has increased in recent years. The adding nutritional ingredients to fermented beverage wort reduces fermentation time. Fermentation is an important feature for the brewing industry. The present study evaluates the physical-chemical and sensorial characteristics of artisanal beers made with different bee pollen concentrations. We elaborated five beer treatments with different concentrations of bee pollen (T0 = control, T1 = 2.5, T2 = 5, T3 = 7.5, and T4 = 10 grams of pollen/liter of most). We characterized the beers physically and chemically in terms of total soluble solids content, density, reducing sugar, primitive extract, apparent extract, real extract, pH, total acidity, color, ash, alcohol content, fermentation degree, phenolic compounds, and total flavonoids. Beer with higher pollen content presented the lowest averages for density and real extract, indicating a better conversion of sugar into alcohol, besides favoring the increase in the phenol and total flavonoid contents in the beers studied. The addition of bee pollen to beer formulations favored fermentation kinetics, increasing the alcohol content and the actual fermentation degree. According to sensory analysis, the product has commercialization potential, as it obtained good acceptance by the sensory panelists.

Keywords: *Apis mellifera*, fermentation, yeast, Ale type.

INTRODUÇÃO

A cerveja é a bebida alcoólica de maior valor nutricional quando comparada a outras bebidas (RIBEIRO-TAFULO et al., 2010). As principais matérias primas cervejeiras são água, malte, lúpulo e fermento (BRASIL, 2009). Entretanto, no mercado cervejeiro observa-se uma crescente demanda por cervejas com adição de ingredientes não convencionais, que conferem atributos sensoriais diferenciados para consumidores que buscam autenticidade e experiências sensoriais e de consumo diferentes das cervejas tradicionais (STEFENON, 2012; GÓMEZ-CORONA et al., 2016).

O pólen apícola é uma alternativa de produto natural para agregar valor econômico e nutricional às cervejas artesanais (SOLGAJOVÁ et al., 2014). É um alimento rico em aminoácidos, proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas, minerais, fibras, compostos fenólicos e flavonoides (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005; MELO e ALMEIDA, 2017; MELO et al., 2018) e pode ser usado como suplemento terapêutico e nutricional (DENISOW; DENISOW-PIETRZYK, 2016).

Na indústria alimentícia o pólen apícola tem sido utilizado para enriquecer diversos produtos (SILVA et al., 2010; YERLIKAYA, 2014; STAN, 2018; KARABAGIAS et al., 2018; CONTE et al., 2018). Adicionalmente, o pólen pode ser uma boa fonte de nitrogênio para o crescimento das leveduras, e influenciar positivamente no processo de fermentação de cerveja (VIDRIH; HRIBAR, 2007). A adição de ingredientes nutricionais no preparo de bebidas fermentadas reduz o tempo de fermentação, evita o desenvolvimento de microrganismos contaminantes responsáveis pela produção de características organolépticas indesejáveis, contribuindo para o aumento da vida útil do produto (MORSE, 1980).

Em bebidas maltadas, a adição de pólen apícola de diferentes origens botânicas proporcionou um aumento no conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides, e conseqüentemente a atividade antioxidante (SOLGAJOVÁ et al., 2014). Quando utilizado no mosto de hidromel, o pólen apícola melhorou a cinética da fermentação e o rendimento de álcool, além de redução da acidez total e maior aceitação sensorial (ROLDÁN et al., 2011).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de pólen apícola desidratado em diferentes concentrações sobre as

características físico-químicas e sensoriais de cervejas artesanais de alta fermentação.

MATERIAL E MÉTODOS

Análise físico-química e polínica do pólen apícola desidratado

A amostra de pólen apícola desidratado (*Apis mellifera*) foi adquirida direto com um apicultor e encaminhada para o Laboratório, onde foram realizadas as análises físico-químicas: umidade, teor de cinzas, pH, acidez, lipídeos (ZENEBO; TIGLEA, 2008), teor de proteína (total de nitrogênio) (AOAC, 2000), fenóis totais (SINGLETON et al., 1999) e flavonoides (HERALD et al., 2012).

Para análise polínica o pólen foi submetido ao método de acetólise (ERDTMAN, 1960), em seguida foram montadas as lâminas com gelatina glicerizada e seladas com verniz incolor. Foi realizada a contagem consecutiva de até 1000 grãos de pólen para a determinação da frequência dos tipos polínicos presentes na amostra. Para verificar a afinidade botânica dos tipos polínicos foi realizada uma comparação com o laminário de referência do Núcleo de Estudo dos Insetos da UFRB e por meio de consulta a literatura especializada.

Elaboração do mosto cervejeiro com adição de pólen apícola desidratado em diferentes concentrações

A cerveja produzida se enquadra no estilo *Blonde Ale*, que segundo o Beer Judge Certification Program (BJCP) é uma cerveja clara, leve, de médio corpo e aromas e sabores oriundos de malte, lúpulo e leveduras suaves (STRONG e ENGLAND, 2015). Na produção foram utilizadas as seguintes matérias-primas: água mineral, malte tipo *Pilsen*, malte tipo *Caramel Light*, malte tipo *BlackSwaen Biscuit*, lúpulo de amargor, pólen apícola desidratado e o fermento cervejeiro (levedura *Ale* da espécie *Saccharomyces cerevisiae*), de acordo com receita obtida no aplicativo cervejeiro BeerSmith™ (2018).

As bebidas foram elaboradas de acordo com os seguintes tratamentos:

T0 - cerveja artesanal de alta fermentação com 100% de malte;

T1 - cerveja artesanal de alta fermentação com 2,5 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação;

T2 - cerveja artesanal de alta fermentação com 5,0 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação;

T3 - cerveja artesanal de alta fermentação com 7,5 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação;

T4 - cerveja artesanal de alta fermentação com 10 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação;

Para a preparação do mosto cervejeiro o *blend* de malte seco em grãos (5 kg) foi moído em granulometria desejada e, na sequência feita a mosturação, baseada em depositar 14 litros de água mineral em uma panela de inox, adicionando lentamente o malte moído, sob agitação constante. O processo de brassagem foi realizado em duas etapas a 65 °C durante 45 min, em seguida aumentou-se a temperatura para 78 °C durante 10 min. Ao final da mosturação, foi realizado o teste de iodo, para confirmação da sacarificação do amido.

Em seguida, o mosto foi separado do bagaço de malte por processo convencional de recirculação e a torta de filtro foi lavada com 10 litros de água aquecida a 76 °C, visando aumentar a extração de açúcares remanescentes na casca.

O recipiente contendo o mosto foi submetido à fervura por 60 minutos a 100 °C, visando a precipitação das proteínas. Em continuação, iniciou-se o processo de lupulagem, adicionando-se 24 g de lúpulo tipo amargor. Sendo adicionado no início, meio e fim do processo.

Finalizada à fervura (lupulagem), o mosto foi agitado por 5 minutos de forma circular para formar um redemoinho que proporciona que as proteínas coaguladas se sedimentem. Após esta etapa o mosto permaneceu em repouso por 20 minutos.

Em seguida foi efetuada a transferência do mosto limpo para o balde fermentador. O teor de sólidos solúveis totais do mosto foi corrigido para aproximadamente 11 °Brix em cada tratamento, mediante adição de água mineral. Em seguida, foi feita a homogeneização do mosto adicionando o pólen de acordo com cada tratamento (T0, T1, T2, T3 e T4) em fermentadores separados.

Para a etapa de fermentação, o inóculo de cada tratamento constitui em 10 g de leveduras hidratadas por 10 min em 200 mL de mosto. A fermentação ocorreu em temperatura de 18 °C, em estufa BOD (Solab) durante 7 dias. Concluída a

fermentação, iniciou a etapa de maturação, que consistiu em baixar a temperatura para 12 °C durante 15 dias.

Ao término do tempo de maturação foi realizado a adição do *priming* (açúcar que tem como objetivo o processo de refermentação da cerveja na garrafa visando a gaseificação), sendo adicionados 6 g de açúcar refinado por litro de cerveja e, após a homogeneização, a cerveja foi transferida para garrafas com capacidade de 330 mL, devidamente higienizadas e fechadas com tampas de metal e engarrafador manual. As garrafas foram armazenadas em estufa BOD (Solab) por 15 dias à 20 °C. Concluída a refermentação, as garrafas foram acondicionadas em temperatura de refrigeração (aproximadamente 5 °C) e guardadas para análises posteriores.

Caracterização físico-química das cervejas artesanais de alta fermentação com pólen apícola desidratado em diferentes concentrações

Para avaliar as características do mosto cervejeiro e a qualidade das cervejas produzidas foram efetuadas análises físico-químicas. Para caracterizar o mosto foram determinados o teor de sólidos solúveis e a densidade. Para as análises físico-químicas da cerveja as amostras foram descarbonatadas e realizadas seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

pH

A análise foi realizada através de leitura direta em pHmetro, conforme descrito pela AOAC. (2000).

Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)

Determinado com auxílio de um refratômetro digital.

Densidade

Em uma proveta, transferiu-se aproximadamente 100 mL da amostra de cerveja, e a densidade foi medida com densímetro, sendo o resultado expresso no próprio equipamento.

Extrato Real

O extrato real foi determinado pelo resultado da pesagem do resíduo seco de um volume de 10 mL de cerveja submetido a evaporação. O cálculo utilizado para a obtenção do resultado foi:

$$\text{ExR (\%)} = (100 \times P) / V$$

Onde: ExR (extrato real % m/v);

P = massa do resíduo, em g;

V = volume da amostra, em mL.

Extrato Primitivo

Obtido por meio de cálculo envolvendo os valores de teor alcoólico e extrato real.

$$\text{EP (\%)} = \frac{[(P \times 2,088) + E_r] \times 100}{[100 + (P \times 1,066)]}$$

Onde: EP (%) = Extrato primitivo, em % m/m;

P = % de álcool em peso;

E_r = % de extrato real.

Grau Real de Fermentação

Para o grau real de fermentação, foi realizado o cálculo baseado na porcentagem de álcool e extrato primitivo.

$$\text{Grau Real de Fermentação} = \frac{100 \times A \times 2,0665}{C}$$

Onde: A = % de álcool em peso;

C = % de extrato primitivo

Teor Alcoólico

A determinação do teor alcoólico da cerveja produzida foi realizada pelo método ebulliométrico, no qual se determina a quantidade percentual de álcool etílico em uma solução alcoólica ao ser fixado o ponto zero na escala do ebulliômetro (ALVES, 2014). O método se baseia na diferença entre os pontos de ebulição da água (100°C) e do álcool (78,4°C), no qual o valor do ponto de ebulição da cerveja produzida deverá se encontrar dentro desta faixa de temperatura. Desta forma, quanto maior a quantidade de álcool presente na amostra utilizada, mais próxima da temperatura de ebulição do álcool puro estará a temperatura de ebulição da amostra.

Acidez Total

A análise de acidez total foi realizada através de técnica de titulação com solução de NaOH 0,1N. O cálculo utilizado para a obtenção do resultado foi:

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

Onde: n = volume em mL de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio;

V = volume da amostra.

Cor

A cor da cerveja foi analisada usando um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 430 nm, sendo o branco a água utilizada na cerveja (EBC, 2005).

Açúcar Redutor

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) de acordo com o procedimento descrito por Miller (1959), usando a glicose como padrão. Os resultados dos açúcares redutores foram expressos em g.L⁻¹.

Determinação dos Fenóis Totais

Foi efetuada pelo método colorimétrico descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999). Os resultados foram expressos em miligramas equivalente de ácido gálico por mL de cerveja (GAE mL⁻¹), a partir da curva padrão ($y = 0,0099x + 0,0119$; $R^2=0,9976$).

Determinação dos Flavonoides Totais

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico reportado por Woisky e Salatino (1998) e a quercetina foi usada como padrão. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de quercetina/mL de cerveja (CAE mL⁻¹) a partir da curva padrão ($y = 0,0326x - 0,0244$; $R^2 = 0,9983$).

Análise sensorial

As cervejas foram analisadas sensorialmente por teste afetivo (preferência), com utilização de escala hedônica estruturada de nove pontos, ancorada nas notas de 1 (Desgostei muitíssimo) a 9 (Gostei muitíssimo), avaliando os parâmetros de aparência, aroma, sabor e avaliação global (LIM, 2011).

A análise sensorial foi realizada com alunos dos cursos de graduação e servidores de uma unidade universitária do Recôncavo da Bahia totalizando 50 pessoas. A quantidade de cerveja ofertada aos provadores foi de 25 ml, na temperatura aproximada de 5°C, servida em copos de acrílico, as quais foram codificadas com números de 3 dígitos. As amostras foram servidas de forma aleatória. Esta pesquisa foi registrada na Plataforma Brasil (CAAE: 01060718.9.0000.0056) e aprovada sob o parecer nº 3.231.331.

Análise Sensorial de Cervejas com adição de pólen apícola

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____ Cabine: _____

Você está recebendo cinco amostras codificadas de cerveja com adição de pólen apícola. Por favor, prove as amostras, da esquerda para a direita e indique usando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou de cada atributo. **Entre uma amostra e outra beba um pouco de água e aguarde 30 segundos.**

ATRIBUTOS	AMOSTRAS				
Aceitação Global	_____	_____	_____	_____	_____
Aparência	_____	_____	_____	_____	_____
Corpo	_____	_____	_____	_____	_____
Aroma	_____	_____	_____	_____	_____
Amargor	_____	_____	_____	_____	_____
Sabor	_____	_____	_____	_____	_____
Formação de espuma	_____	_____	_____	_____	_____

9- Gostei muitíssimo
8- Gostei muito
7- Gostei
6- Gostei pouco
5- Nem gostei/
Nem desgostei
4- Desgostei pouco
3- Desgostei
2- Desgostei muito
1- Desgostei muitíssimo

Intenção de compra
1 – Decididamente eu compraria
2 – Provavelmente eu compraria
3 – Talvez sim/ Talvez não
4 – Provavelmente eu não compraria
5 – Decididamente eu não compraria

	AMOSTRAS				
Intenção de compra	_____	_____	_____	_____	_____

Comentários: _____

Agradecemos sua participação

Figura 1. Ficha de avaliação sensorial utilizada na análise sensorial de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de pólen apícola.

Análise dos dados

Os dados obtidos para os parâmetros físico-químicos das cervejas foram submetidos à análise estatística multivariada, aplicando MANOVA para identificar efeitos significativos da adição de diferentes concentrações de pólen apícola em cervejas artesanais de alta fermentação, com utilização do teste multivariado Lambida de Wilks. A análise discriminante canônica foi realizada para determinar a contribuição de cada variável na discriminação dos tratamentos. Todas as análises foram feitas utilizando o software R 3.4.1 (R Core Team, 2018). Para as notas dos atributos sensoriais foi realizado o teste de Shapiro-Wilks para verificar a normalidade dos dados, as variáveis que não seguem distribuição normal foram transformadas através do Ln (x) e posteriormente realizada o Teste F da análise de variância. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As medias das notas da aceitação global foram utilizadas para o cálculo do índice de aceitabilidade (IA) do produto (média da aceitação global x 100/ nota máxima dada ao atributo) e o mínimo de 70% de IA foi utilizado como limite para considerar se o produto foi bem aceito pelos consumidores (DUTCOSKY, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise polínica e físico-química do pólen apícola desidratado

O espectro polínico da amostra é composto por 11 tipos polínicos, pertencentes a nove famílias botânicas, sendo classificado como um pólen multifloral. Os tipos polínicos *Schinus* (Anacardiaceae), Caesalpinoideae (Fabaceae), *Baccharis* (Asteraceae) e *Myrcia* (Myrtaceae) apresentaram a maior frequência no espectro polínico, respectivamente, conforme são apresentados na Tabela 1.

A composição do pólen apícola varia de acordo com cada espécie de planta utilizada na coleta dos grãos de pólen. Muitas substâncias, como polifenóis, possuem propriedades antioxidantes, antimicrobianos e com potencial para a prevenção de doenças. Esses compostos estão presentes nos grãos de pólen e consequentemente no pólen apícola (MELO e ALMEIDA-MURADIAN, 2017).

Para os parâmetros físico-químicos do pólen (Tabela 2) todos os itens, com exceção da umidade, estão de acordo com os padrões de Identidade e Qualidade

para Pólen Apícola (BRASIL, 2001). Porém, teores de umidade superior ao previsto na legislação são observados em outras amostras de pólen apícola desidratado Arruda et al. (2017), estudando 62 amostras de diferentes regiões brasileiras, observou que apenas 17,7% apresentaram teores de umidade inferior a 4%. As condições ambientais podem influenciar no aumento da umidade em pólen apícola, visto a sua alta capacidade de absorver a umidade do ar (MARCHINI et al., 2006).

Tabela 1. Frequência dos tipos polínicos do pólen apícola desidratado utilizado na elaboração de cervejas artesanais de alta fermentação.

Família	Tipos polínicos	Frequência (%)
Anacardiaceae	<i>Schinus</i>	22,00
Arecaceae	Arecaceae	6,00
Asteraceae	<i>Baccharis</i>	20,50
	<i>Elephantopus</i>	1,60
Commelinaceae	<i>Tradescantia</i>	0,50
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia</i>	0,60
Fabaceae	Caesalpinoideae	21,20
	<i>Mimosa pudica</i>	11,00
Myrtaceae	<i>Myrcia</i>	14,70
Plantaginaceae	<i>Scoparia dulcis</i>	1,30
Rubiaceae	<i>Borreria verticillata</i>	0,60

Os valores de cinzas corroboram com os valores apresentados por Almeida-Mouradian et al. (2005) para pólen apícola de diferentes colorações. O teor de proteínas foi 27% superior ao mínimo exigido pela legislação e são similares aos teores de pólen de amostras provenientes da Bahia (MELO et al., 2018). Embora, tenha sido inferior aos de outros estudos com pólen de diferentes regiões (ALMEIDA-MOURADIAN et al., 2005; ARRUDA et al., 2013; 2017).

Os valores de compostos fenólicos totais e flavonoides totais foram superiores aos encontrados por Araújo et al. (2017) que avaliaram pólen apícola monoflorais e heteroflorais de diversas regiões do Brasil. Os mesmos autores relatam valor máximo de 75,6 GAE mL⁻¹ para compostos fenólicos e 9,05 CAE mL⁻¹ para flavonoides totais em amostra de pólen apícola monofloral de *Cocos nucifera*.

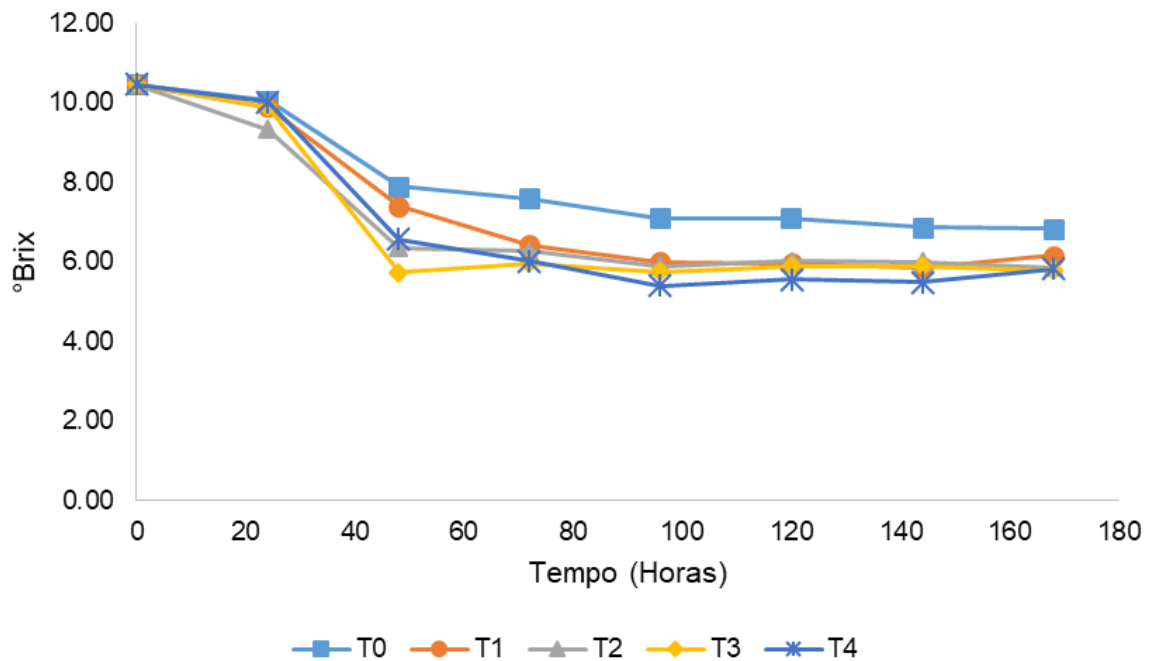
Tabela 2. Parâmetros físico-químicos do pólen apícola desidratado utilizado na elaboração das cervejas artesanais de alta fermentação.

Parâmetros físico-químicos	Pólen apícola desidratado (media ± DP)	Legislação Brasileira (BRASIL, 2001)
Umidade (%)	8,65 ±0,17	Max. de 4%
pH	4,78 ±0,02	4 a 6
Acidez (mEq kg⁻¹)	47,00 ±0,50	Max. de 300 mEq/kg em base seca
Atividade de água (Aw)	0,40 ±0,042	----
Cinzas (%)	2,55 ±0,14	Max de 4% em base seca
Proteínas (%)	11,13 ±1,59	Min. de 8 g/100 g em base seca
Compostos Fenólicos totais (GAE mL⁻¹)	101,69 ±0,23	-----
Flavonoides totais (CAE mL⁻¹)	20,55 ±0,17	-----

Análise do mosto cervejeiro

O mosto cervejeiro elaborado nesse estudo obteve valores próximos a 11°Brix (Figura 2). Pela legislação brasileira quando a cerveja possui um mosto inicial de 12°Brix é considerada “comum” (BRASIL, 2009).

Foi possível observar que durante a fermentação os valores de sólidos solúveis totais variam de 10,47 a 5,83°Brix até o final da fermentação as 168h. Essa diminuição significa que os açúcares presentes no mosto foram transformados pelas leveduras em álcool e CO₂. Houve uma estabilização da fermentação, obtendo valor final de 6,83 (T0) a 5,83°Brix (T4). Segundo SANTOS et al (2018), as medidas do refratômetro são distorcidas em presença de etanol. Logo, este valor deve ser menor.



T0 – Cerveja artesanal tipo *A/e* 100% malte, T1 - tipo *A/e* com 2,5 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação, T2 - tipo *A/e* com 2,5 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação, T3 - tipo *A/e* com 2,5 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação, T4 tipo *A/e* com 2,5 g L⁻¹ de pólen no mosto no momento da fermentação.

Figura 2. Variação de teor de sólidos solúveis totais (°Brix) de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de pólen apícola desidratado durante a fermentação em função do tempo.

Caracterização físico-química da cerveja

A quantidade de açúcares redutores na cerveja final foi maior no tratamento sem adição de pólen (T0) e os menores valores foram apresentados por T3 e T4, respectivamente (Tabela 3). Em relação a densidade, ocorreu um comportamento semelhante, o que já era esperado, pois o tratamento T0 apresentou a maior média devido a maior quantidade de açúcares residual. Esses resultados podem indicar que a adição de pólen proporcionou uma fermentação mais eficiente, visto que o consumo dos açúcares foi maior.

A quantificação dos açúcares em bebidas fermentadas é importante, pois através deste parâmetro podemos mensurar o percentual de etanol antes da fermentação, avaliar a velocidade do consumo de açúcares durante a fermentação e ao fim quanto desses açúcares deixou de ser fermentado (FERNÁNDEZ-NOVALES et al., 2009; NEGRULESCU et al., 2012).

Em relação ao teor de sólidos solúveis totais, os valores encontrados variaram entre 5,31 a 5,80°Brix. Esses valores corroboram com as médias de cervejas comerciais brasileiras do tipo *A/e*, que apresentaram índice de refração variando entre 5,8 e 6,0°Brix (MOURA-NUNES et al., 2016).

O pH variou de 4,27 (T0) a 4,09 (T4), indicando que é uma bebida levemente ácida. Esses valores restringem a contaminação microbiana, inclusive as principais contaminantes da cerveja, que são as bactérias lácticas (REBELLO, 2009). A legislação brasileira para cerveja não faz menção de limites para a pH, mas segundo Hardwick (1995), o pH de cervejas tipo *A/e* pode variar entre 3 e 6. Assim as cervejas analisadas apresentaram pH dentro do recomendado.

O valor do índice da maior raiz de Roy= 65952 ($F= 49464$, $p= 0.000 < 0.05$) indica a existência de um efeito multivariado significativo entre os tratamentos com diferentes concentrações de pólen apícola. As duas primeiras funções discriminantes canônicas (FDC₁ e FDC₂) são significativas pelo teste Lambda de Wilks (Tabela 4).

A FDC₁ apresentou correlação canônica de 1,00 e explicou 95,49% da variabilidade dos dados, enquanto a FDC₂ apresentou correlação canônica de 0,98, permitindo explicar cumulativamente 100% da variabilidade das informações do conjunto de dados (Tabela 4). O alto valor da correlação canônica na FDC₁ indica elevada associação entre as variáveis estudadas.

A partir dos dados dos coeficientes de função discriminantes padronizados é possível observar que os tratamentos com maiores pesos na separação para a primeira discriminante canônica (Can 1) foram: T0 (CCP = 308,18) e T1 (CCP = -258,14) (Tabela 4). As variáveis Açúcar redutor (CCP= -21,7696), Extrato real (CCP = -21,6013) e Flavonoides (CCP = -21,3615) apresentaram maior peso canônico na distinção das variáveis para a primeira para a Can 1, o que contribuiu para a discriminação dos tratamentos, indicando que essas variáveis foram as mais influenciadas pela a adição de pólen apícola nas cervejas. Para a segunda discriminante canônica (Can 2) as variáveis pH (CCP = -18,7147) e Densidade (CCP= -16,0765).

Tabela 3. Parâmetros físico químicos de cervejas artesanais com adição de pólen apícola desidratado.

Tratamentos		SST	pH	Den	ER	TA	EP	GRF	Fenóis	Flavonoides	AR	Cor	Cinzas
T0	Média	5,80	4,27	1010,00	5,07	4,30	13,51	65,80	55,06	3,71	2,65	14,58	0,1934
	DP	0,35	0,04	1,00	0,03	0,00	0,10	0,49	0,23	0,02	0,66	0,03	0,0001
	Min	5,40	4,24	1009,00	5,04	4,30	13,40	65,31	54,83	3,69	1,90	14,55	0,1933
	Max	6,00	4,31	1011,00	5,09	4,30	13,60	66,29	55,28	3,73	3,14	14,60	0,1935
	F	1,86	2,19	22,36	180,40	1248,00		248,50	14,14	97,65	0,77	349,8	
	P	0,1941	0,1426	<0,0000	<0,0000	<0,0000		<0,0000	<0,0000	<0,0000	0,5685	<0,0000	
T1	Média	5,31	4,12	1006,67	4,58	4,55	13,63	69,03	55,76	8,81	2,12	16,80	0,2014
	DP	0,31	0,07	0,58	0,17	0,05	0,40	1,28	1,63	0,64	0,53	0,10	0,0019
	Min	5,10	4,04	1006,00	4,48	4,50	13,22	67,77	54,17	8,16	1,56	16,70	0,1995
	Max	5,67	4,17	1007,00	4,78	4,60	14,03	70,33	57,42	9,44	2,61	16,90	0,2033
	F	1,86	2,19	22,36	180,40	1248,00		248,50	14,14	97,65	0,77	349,8	
	P	0,1941	0,1426	<0,0000	<0,0000	<0,0000		<0,0000	<0,0000	<0,0000	0,5685	<0,0000	
T2	Média	5,52	4,17	1006,00	3,99	5,00	13,71	75,37	57,79	9,09	1,95	17,12	0,2089
	DP	0,17	0,16	1,00	0,03	0,00	0,02	0,10	0,03	0,40	0,36	0,16	0,0010
	Min	5,33	4,08	1005,00	3,96	5,00	13,69	75,26	57,76	8,70	1,61	16,95	0,2079
	Max	5,63	4,35	1007,00	4,01	5,00	13,73	75,47	57,82	9,50	2,33	17,28	0,2098
	F	1,86	2,19	22,36	180,40	1248,00		248,50	14,14	97,65	0,77	349,8	
	P	0,1941	0,1426	<0,0000	<0,0000	<0,0000		<0,0000	<0,0000	<0,0000	0,5685	<0,0000	
T3	Média	5,37	4,09	1004,67	3,80	5,20	13,90	77,29	58,35	9,50	1,86	17,18	0,2128
	DP	0,17	0,05	0,58	0,01	0,00	0,06	0,34	0,53	0,14	0,91	0,10	0,0010
	Min	5,17	4,03	1004,00	3,79	5,20	13,84	76,96	57,82	9,36	0,91	17,08	0,2118
	Max	5,50	4,12	1005,00	3,81	5,20	13,96	77,64	58,87	9,64	2,73	17,28	0,2137
	F	1,86	2,19	22,36	180,40	1248,00		248,50	14,14	97,65	0,77	349,8	
	P	0,1941	0,1426	<0,0000	<0,0000	<0,0000		<0,0000	<0,0000	<0,0000	0,5685	<0,0000	
T4	Média	5,38	4,16	1004,00	3,55	5,40	14,03	79,55	59,08	10,35	1,91	17,70	0,2145
	DP	0,20	0,02	1,00	0,01	0,00	0,02	0,11	0,41	0,68	0,60	0,13	0,0004
	Min	5,23	4,14	1003,00	3,55	5,40	14,01	79,44	58,67	9,67	1,22	17,58	0,2141
	Max	5,60	4,17	1005,00	3,56	5,40	14,05	79,66	59,50	11,04	2,30	17,83	0,2149
	F	1,86	2,19	22,36	180,40	1248,00		248,50	14,14	97,65	0,77	349,8	
	P	0,1941	0,1426	<0,0000	<0,0000	<0,0000		<0,0000	<0,0000	<0,0000	0,5685	<0,0000	

p < 0.005 para comparação de médias; SST: Sólidos Totais; Den: Densidade; ER: Extrato Real; TA: Teor Alcoólico; EP: Extrato Primitivo; GRF: Grau Real de Fermentação; AR: Açúcar redutor.

Tabela 4. Teste multivariado Lambda de Wilks (aproximação da distribuição F) para as três funções canônicas.

Função discriminante canônica (FDC)	Correlação Canônica	Autovalor	% da variância	Cumulativo (%)	p-valor
FDC ₁	1,00	65952,00	99,94	99,94	< 0,000
FDC ₂	0,98	40,58	0,06	100,00	0,0294
FDC ₃	0,68	2,16	0,00	100,00	0,5736

Tabela 5. Coeficientes canônicos padronizados (CCP) das duas primeiras funções discriminantes canônicas (FDC) de 5 variáveis analisadas,

Tratamentos	Discriminante Canônica 1 (Can1)	Discriminante Canônica 2 (Can2)
T0	308,18	-7,0424
T1	-258,14	-2,6472
T2	171,213	8,63924
T3	-63,51	1,84159
T4	-157,75	-0,7913
Variáveis		
pH	-7,3784	-18,7147
Densidade	11,8407	-16,0765
Extrato Real	-21,6013	-4,9475
TA	18,5917	-0,8478
GRF	18,8908	4,3193
Fenóis	-11,8261	-3,0817
Flavonoides	-21,3615	-5,7635
AR	-21,7696	-3,1162

AR- Açúcar Redutor, TA- Teor Alcoólico, GRF - Grau Real de Fermentação

Como as duas primeiras funções canônicas apresentam variação acumulada de 100% foi realizada a análise discriminante canônica por meio da dispersão dos escores via *biplot* canônico, onde os eixos são as referidas funções de correlação canônica e construído gráficos *boxplots* dos *scores* para a função discriminante canônica 1 (Figura 2).

De acordo com o *boxplots* dos *scores* para a função discriminante canônica 1 (Figura 3 – A), o tratamento T0 sem a adição de pólen apícola foi discriminada dos demais tratamentos, apresentando maiores valores para as variáveis Densidade e Extrato real.

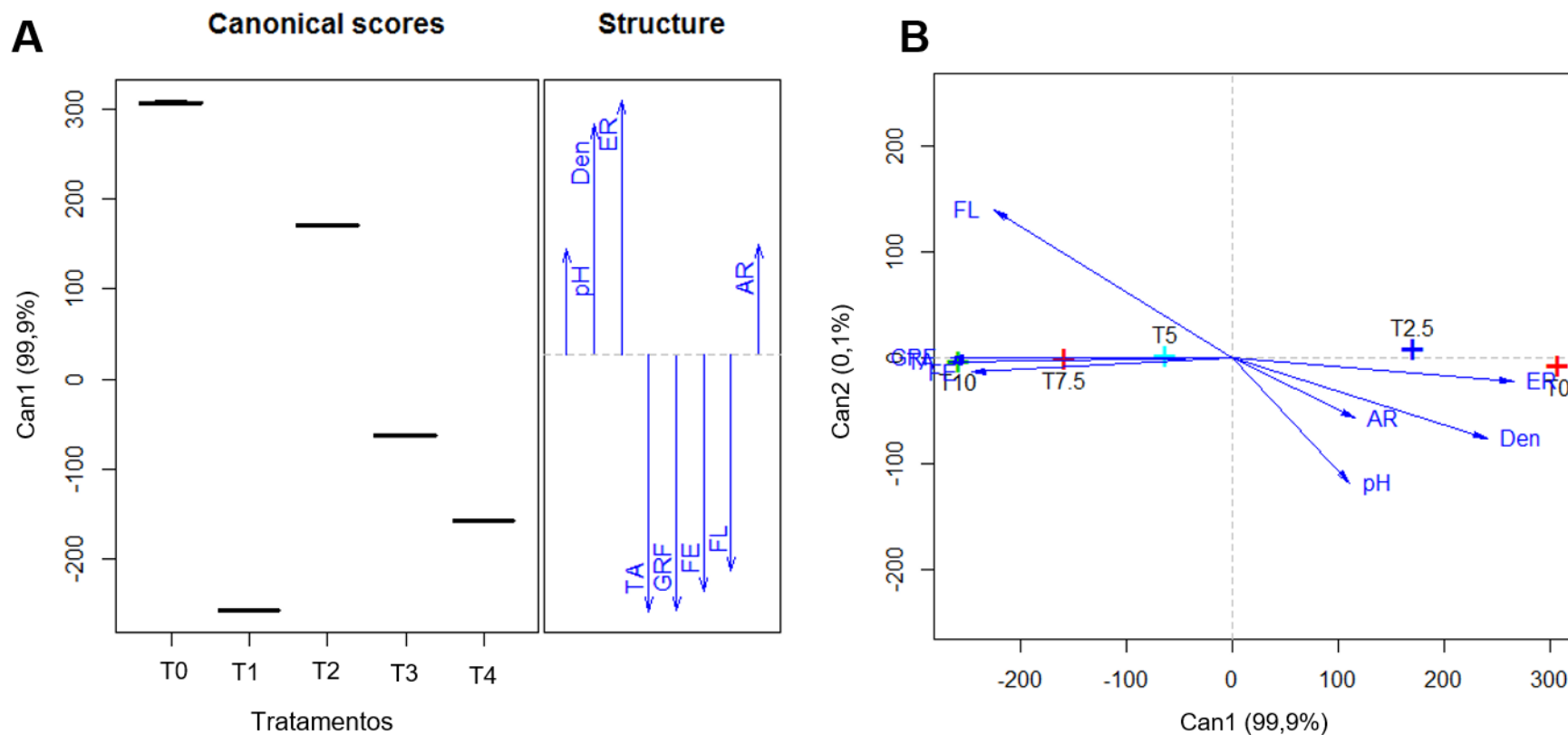


Figura 3. Análise discriminante canônica para as cervejas artesanais com adição de pólen apícola. (A) Gráficos *boxplots* dos scores para a função discriminante canônica 1 e Gráficos de barras das funções discriminantes e os vetores representam a influência de cada variável analisada, (B) *Biplot* da análise discriminante canônica para a correlação entre os diferentes tratamentos de cerveja calculadas com base em oito variáveis, Açúcar Redutor (AR), Densidade (Den), Extrato Real (ER), Teor Alcoólico (TA), FE (Fenóis), FL (Flavonoides), Grau Real de Fermentação (GRF).

O percentual de extrato real nas cervejas indica a quantidade de ingredientes não transformados em álcool, pois são eles que proporcionam corpo, cor, estabilidade da espuma e sabor a cerveja (BRASIL, 2009). Dentre as diferentes concentrações de pólen testadas nas cervejas artesanais, o T4 apresentou a menor média para esse parâmetro (3,55 %) (Tabela 3). A adição de pólen no mosto cervejeiro permitiu uma melhor conversão dos ingredientes em álcool, auxiliando no metabolismo das leveduras como fonte de nutrientes. Resultados similares foram encontrados em cervejas onde o mel foi adicionado nas proporções de 0%, 20% e 40%, sendo que as médias de extrato real foram 4,76, 3,94 e 3,30, respectivamente (BRUNELLI et al., 2014).

Pela análise discriminante canônica na Figura 3-B, o eixo da primeira função discriminante canônica (Can1) foi significativamente o mais importante para a discriminação dos cinco tratamentos em dois grupos, sobre as variáveis estudadas. O tratamento T1 (com adição de $2,5 \text{ g L}^{-1}$ de pólen) foi discriminado na região mais próxima do tratamento T0 (controle) formando o primeiro grupo no extremo direito da Can 1 por apresentarem comportamentos similares para as variáveis extrato real, densidade, pH e açúcar redutor. Os tratamentos T2, T3 e T4 formaram o segundo grupo pois apresentaram maiores médias para as variáveis teor alcoólico, grau real de fermentação, fenóis torais e flavonoides totais.

Para o teor alcoólico os valores variaram de 4,55 a 5,40%. Cabe destacar, que quanto maior foi a adição de pólen, maior o teor alcoólico, um comportamento esperado, pois com adição do pólen as leveduras fermentaram com melhor eficiência os açúcares, resultando em uma maior produção de etanol. Isto pode estar relacionado ao fato de o pólen conter nutrientes importantes que propiciam a aceleração da ação enzimática das leveduras.

Os resultados obtidos são confirmados pelo grau real de fermentação (GRF), onde T4 apresentou um maior percentual (79,55%). Esse parâmetro indica o percentual real de transformação do açúcar contido no mosto cervejeiro em álcool e CO_2 (KUNZE, 1996). Segundo Camili e Cabello (2006), a concentração adequada de nutrientes é muito importante, pois se presentes em quantidades insuficientes ou exageradas, podem refletir de forma negativa sobre o processo fermentativo. A falta de nutrientes pode afetar consideravelmente o rendimento alcoólico e a viabilidade celular da levedura.

Os fenóis totais variaram de 55,06 a 59,08 GAEs.mL⁻¹, devido as diferentes concentrações de pólen adicionado no mosto. Esses valores corroboram com os apresentados por Willer e Bezerra (2017), em cervejas artesanais com adição de especiarias, obtendo resultados de 38,04 a 67,36 (mg EAG g⁻¹). Moura-Nunes et al. (2016) estudando o conteúdo de compostos fenólicos em cervejas artesanais identificou dez compostos fenólicos, todos ácidos fenólicos com média de 13,0 mg L⁻¹, sendo o ácido gálico o composto fenólico mais abundante em todas amostras estudadas, variando de 0,5 a 14,7 mg L⁻¹.

A presença de compostos fenólicos na cerveja pode proporcionar uma ação antioxidante, tornando-a capaz de auxiliar em alguns distúrbios fisiológicos do organismo, sem a preocupação dos efeitos do álcool devido a seu baixo teor na bebida (MACIEL et al., 2013).

O teor de flavonoides totais variou de 3,71 CAEs mL⁻¹ (T0) a 10,35 CAEs mL⁻¹ (T4). Segundo Maciel et al., (2013), a rutina é o flavonoide que se destaca na cerveja, pois ele produz efeitos benéficos que aumenta a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase que atua diminuindo os fatores de risco de aterosclerose e de doenças cardiovasculares, aumentando também o colesterol bom.

A cor das cervejas pode ser caracterizada em claras as que apresentam até 20 EBC e escuras aquelas com valor acima de 20 EBC (BRASIL, 2009). Todas as amostras foram classificadas como claras, mesmo diferindo estatisticamente. De acordo com Carvalho et al. (2017), a cor afeta o sabor esperado pelo consumidor, influenciando na experiência de degustação, além disso consumidores em geral, julgando apenas pela cor da cerveja, esperam que as cervejas mais claras sejam mais baratas do que as escuras.

De acordo com a legislação brasileira o teor de extrato primitivo das cervejas é utilizado para classificar as cervejas como leve (5 a 10,5%), comum (10,5% a 12,5%), extra (12,5 a 14%) e forte (>14,5%) (BRASIL, 2009). Baseado nos valores de extrato primitivo encontrados na Tabela 5, pode se determinar que todas as formulações são classificadas como extra. Entretanto, foi observado uma diferença estatística entre os tratamentos T0 e T4, e podemos inferir que a adição de pólen aumentou levemente o teor de extrato primitivo das cervejas estudadas.

Algo semelhante foi observado por Oliveira et al. (2015), em cervejas elaboradas com substituição parcial do malte por mel de *Apis mellifera*. Os autores observaram que a cerveja com substituição de 20% do volume de mosto de malte por mel apresentou uma média de extrato primitivo de 18,4%, estatisticamente superior à cerveja com 100% de malte que apresentou média de 15,7%.

Verificou-se que o teor de cinzas nas cervejas elaboradas também foi influenciado pela adição de pólen, sendo o T3 e T4 obtiveram maiores médias (0,2127%) e (0,2145%) respectivamente, pois em sua composição o pólen contém vários minerais e vitaminas (ALMEIDA-MURADIAN et al., 2005) que podem enriquecer ainda mais o produto. Kempka et al. (2017), ao avaliarem o teor de cinzas na cerveja artesanal tipo *A/e* utilizando mel de diferentes floradas como adjunto, encontraram valores relativamente mais baixos (0,12 e 0,13%).

A caracterização físico-química da cerveja mostra que os valores médios obtidos se encontram dentro da legislação brasileira para cerveja. A classificação final dos cinco tipos de cervejas com adição de pólen apícola desidratado, de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2009) é apresentada no Quadro 1.

Quadro 1. Classificação de cinco tipos de cerveja com adição de pólen apícola desidratado de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2009).

Classificação	Tratamentos				
	T0	T1	T2	T3	T4
Extrato primitivo	Extra	Extra	Extra	Extra	Extra
Cor	Clara	Clara	Clara	Clara	Clara
Teor alcóolico	CA	CA	CA	CA	CA
Proporção de malte de cevada	Puro Malte	Puro Malte	Puro Malte	Puro Malte	Puro Malte
Fermentação	Alta	Alta	Alta	Alta	Alta

CA: Com álcool

Análise sensorial

As cervejas adicionadas de pólen apícola apresentaram a mesma preferência da cerveja puro malte, para todos os atributos analisados (aparência, aroma, sabor e avaliação global), conforme mostrado na Tabela 6 não houve diferença estatística entre os tratamentos. As médias ficaram entre 6 (gostei pouco) e 7 (gostei), o que

significa que tanto o tratamento controle quanto os adicionados de pólen foram bem aceitos pelos provadores. Os tratamentos que continham pólen apícola apresentaram sabor e aroma característicos de cerveja puro malte, atributos que possivelmente os consumidores buscam. Analisando sensorialmente a adição de diferentes concentrações de pólen em iogurtes os autores relatam que os iogurtes que foram enriquecidos com pólen nas concentrações 0,5 e 1,0% obtiveram maiores médias para os atributos sabor, aroma e aparência (KARABAGIAS et al., 2018).

O tratamento T0 apresentou maior índice de aceitabilidade (78,20%), seguido dos tratamentos T4 (77,78), T1 (76,00), T3 (75,33%), T2 (73,11%). De acordo com esses resultados observa-se que em todos os tratamentos atenderam ao critério de boa aceitação igual ou superior a 70% sugerido por (DUTCOSKY, 2007).

Tabela 6. Atributos sensoriais de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de pólen apícola desidratado.

Amostra	Aceitação global	Aparência	Corpo	Aroma	Amargor	Sabor	Formação de espuma
T0	7,04 ±1,31	7,12 ±1,19	6,98 ±1,29	6,92 ±1,69	6,22±1,95	6,20 ±1,7)	6,52 ±1,58
T1	6,84 ±1,58	7,30 ±1,27	6,42 ±1,55	6,96 ±1,67	6,20 ±1,967	6,54 ±2,0)	6,94 ±1,42
T2	6,58 ±1,46	7,20 ±1,32	6,84 ±1,13	6,58 ±1,65	6,00 ±1,93	6,18 ±2,1)	7,04 ±1,55
T3	6,78 ±1,40	7,10 ±1,11	6,96 ±1,07	6,82 ±1,42	6,24 ±1,61	6,48 ±1,4)	6,88 ±1,57
T4	7,00 ±1,65	7,50 ±1,52	6,80 ±1,43	7,02 ±1,63	6,28 ±1,87	6,28 ±1,9)	6,62 ±1,82

A Figura 4 apresenta a porcentagem de notas atribuídas pelos provadores para o parâmetro intenção de compra das amostras de cervejas estudadas. O tratamento com maior intenção de compra foi o T3, com maior porcentagem de notas 2 “provavelmente eu compraria”, indicando que a adição de pólen apícola não interfere na intenção de compra do produto pelos provadores. Em análise sensorial de suco cítrico com adição de pólen foi relatado que 70% dos provadores comprariam a bebida não somente pelas características sensoriais, mas também devido aos efeitos benéficos do pólen como alimento funcional (STAN, 2018).

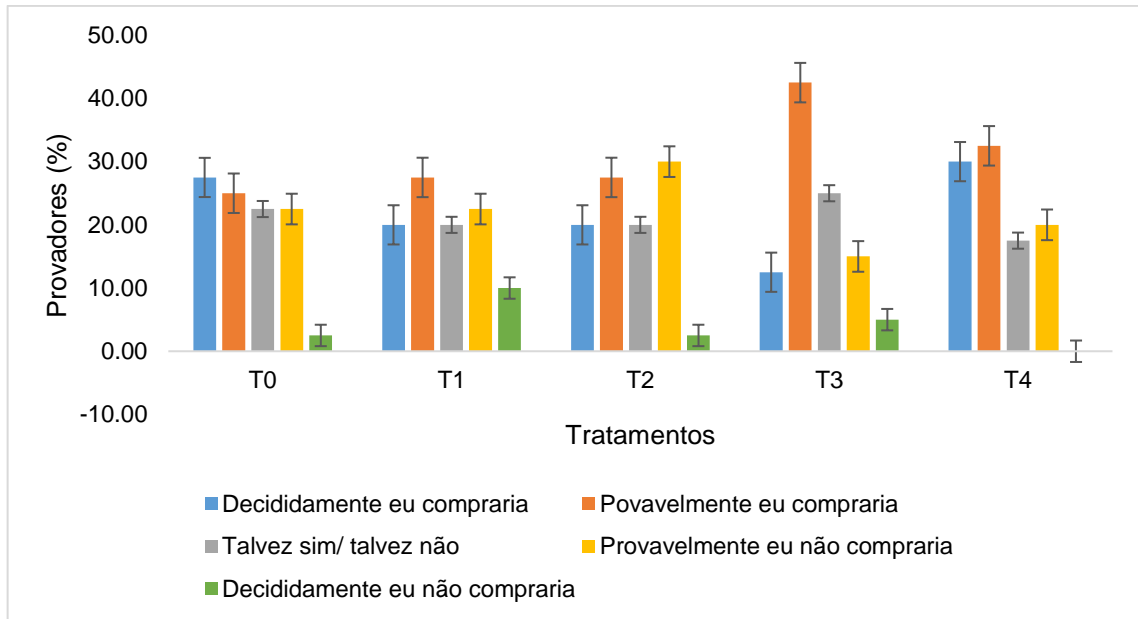


Figura 4. Intenção de compra para cervejas artesanais com adição de pólen apícola.

CONCLUSÃO

O uso do pólen apícola desidratado em cerveja artesanal de alta fermentação permitiu uma maior conversão dos açúcares em etanol e o aumento do grau real de fermentação e teor alcóolico. Além disso, apresentou um incremento no conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides totais que podem ser benéficos para saúde. Quanto à análise sensorial as cervejas o tratamento com maior intenção de compra foi o T3, com maior porcentagem de notas 2 “provavelmente eu compraria”.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA-MURADIAN, L.B.; PAMPLONA, L.C.; COIMBRA, S.; BARTH, O.M. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets, **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 105–111, 2005.
- AMORIM, H. V. **Fermentação Alcoólica: Ciência e Tecnologia**. Piracicaba, São Paulo: Fermentec, 2005. 448p.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**. 17th ed. Virginia, 2000.

ARAÚJO, J.S.; CHAMBÓ, E.D.; COSTA, M.A.P.C.; SILVA, S.M.P.C.; CARVALHO, C.A.L.; ESTEVINHO, L.M. Chemical composition and biological activities of mono and heterofloral bee pollen of diferente geographical origins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p. 1-15, 2017.

ARRUDA, V.A.S.; PEREIRA, A.A.S.; FREITAS, A.S.; BARTH, O. M.; MURADIAN, L.B.A. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, p. 100-105, 2013.

ARRUDA, V.A.S.; SANTOS, A.V.; SAMPAIO, D.F.; ARAÚJO, E.S.; PEIXOTO, A.L.C.; ESTEVINHO, M.L.F.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Microbiological quality and physicochemical characterization of Brazilian bee pollen, **Journal of Apicultural Research**, v. 56, p. 231-238, 2017.

BeerSmith™- Home Brewing Software. Disponível em: < <http://beersmith.com/>>. Acessado em: 17 de março de 2018.

BRASIL. Decreto n. 6871, de 04 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n. 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BRASIL. Instrução Normativa n. 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 jan. 2001, Seção 1, p.18

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

BUSHELL, M.E. **Progress in industrial microbiology**. Oxford: Elsevier, 1984, 198p.

CAMILI, E.A.; CABELLO, C. Produção de Etanol de Tratada com Processo de Flotação. *In*: CARDOSO, M.G. (Ed.). **Produção de Aguardente de Cana**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2006. 445p

CARVALHO, F.R.; MOORS, P.; WAGEMANS, J.; SPENCE, C. The influence of color on the consumer's experience of beer, **Frontiers in Psychology**, v. 08, p. 01-9, 2017.

CONTE, P.; DEL CARO, A.; BALESTRA, F.; PIGA, A.; FADDA, C. Bee pollen as a functional ingredient in gluten-free bread: A physical-chemical, technological and sensory approach, **LTW - Food Science and Technology**, v. 90, p. 1-7, 2018.

DENISOW, B.; DENISOW-PIETRZYK, M. Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 13, p. 4303-4309, 2016. doi: 10.1002/jsfa.7729.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 2 ed. Curitiba: Editora Champagnat, 2007.

EBC - EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica – EBC**. 5th ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 2005.

ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, Stockholm, v.39, p.561-564, 1960.

FERNÁNDEZ-NOVALES, J.; LÓPEZ, M.I.; SÁNCHEZ, M.T.; MORALES, J.; GONZÁLEZ-CABALLERO, V. Shortwave-near infrared spectroscopy for determination of reducing sugar content during grape ripening, winemaking, and aging of white and red wines. **Food Research International**, v. 42, p. 285-291, 2009.

GÓMEZ-CORONA, C.; ESCALONA-BUENDIA, H.B. GÁRCIA, M.; CHOLLET, S.; VALENTIN, D. Craft vs. industrial: Habits, attitudes and motivations towards beer consumption in Mexico. **Appetite**, v. 96, p. 358-367, 2016.

HARDWICK, W.A. **Handbook of brewing**. New York: Dekker, 1995. 713p.

HERALD, T.J.; GADGIL, P.; TILLEY, M. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 11, p. 2326-2331, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p.

KARABAGIAS, I.K.; KARABAGIASV.K.; GATZIAS, I.; RIGANAKOS, K.A. Bio-functional properties of bee pollen: the case of "Bee Pollen Yoghurt". **Coatings**, v. 8, p. 423-438, 2018.

KEMPKA, A.P.; THOMÉ, B.C.; CONTO, R.M.; Produção de cerveja artesanal tipo *ale* utilizando mel de diferentes floradas como adjunto. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 1, p. 105-125, 2017.

KUNZE, W. La cerveza terminada. In: KUNZE, W. **Tecnología para cerveceros y malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006. cap. 7, p. 826-885.

MACIEL, D.C.; ELÓI, L. M. Compostos fenólicos em diferentes marcas de cerveja: comparação qualitativa de diferentes marcas e sua relação com a saúde humana. **Revista Uniara**, v.16, n.1, p. 41-52, 2013.

MARCHINI, L.C.; REIS, V.D.A.; MORETI, A.C.C.C. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas Africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. **Ciência Rural**, v. 36, p. 949-953, 2006.

MELO, A.A.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Chemical composition of bee pollen. In: ALVAREZ-SUAREZ, J.M. (Ed.). **Bee Products - Chemical and Biological Properties**. Berlin: Springer, 2017. p 221-259.

MELO, A.A.M.; ESTEVINHO, L.M.; MOREIRA, M.M.; DELERUE-MATOS, C.; FREITAS, A.S.; BARTH, O.M.; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. A multivariate approach based on physicochemical parameters and biological potencial for the botanical and geographical of Brazilian bee pollen. **Food Bioscience**, v. 25, p. 91-110, 2018.

MENEZES, T.J.B. **Etanol, o combustível do Brasil**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1980. 233p.

MILLER, G. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

MORSE, R.A. **Mead honey wine: history, recipes, methods and equipamento**. Ithaca: Wicwas Press, 1980. 127p.

MOURA-NUNES, N.; BRITO, T.C.; FONSECA, N.D.; AGUIAR, P.F.; MONTEIRO, M.; PERRONA, 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.

NEGRULESCU, A.; PATRULEA, V.; MINCEA, M.M.; IONASCU, C.; VLADOROS, B.A.; OSTAFE, V. Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 12, p. 2176-2182, 2012.

OLIVEIRA, M.D.; FABER, C.R.; OVIEDO, M.S.V. A erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) como substituto parcial do lúpulo amargor na fabricação de cerveja artesanal. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 4, p. 1-12, 2017.

OLIVEIRA, M.D.; FABER, C.R.; PLATA-OVIEDO, M.S.V. Elaboração de cerveja artesanal a partir da substituição parcial do malte por mel. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, p. 1-10, 2015.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. 2018.

REBELLO, F.F.P. Produção de cerveja. **Revista Agrogeoambiental**, v. 01, p. 145-155, 2009.

RIBEIRO-TAFULO, P.A.; QUEIRÓS, R.B.; DELERUE-MATOS, C.M.; M.G.F.S. Control and comparison of the antioxidant capacity of beers. **Food Research International**, v. 43, p. 1702-1709, 2010.

ROLDÁN, A.; VAN MUISWINKEL, G. C. J.; LASANTA, C.; PALACIOS, V.; CARO, I. Influence of pollen addition on mead elaboration: Physicochemical and sensory characteristics. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 574-582, 2011.

SANTOS, S.F.M.; MORAES, F.S.; FERNANDES, L.M.; RIBEIRO, L. B.; FREIRE, K.R.L. Análise Cinética da Fermentação das Leveduras Comerciais S-04 e S-33. **Revista Saúde e Ciência online**, v. 7, n. 2, p. 197-208, 2018.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folincioalceu reagent. **Methods in enzymology**, v. 299, n. 1, p.152-178, 1999.

SOLGAJOVÁ, M.; IVANIŠOVÁ, E.; NŮŽKOVÁ, J.; FRANČÁKOVÁ, H.; TÓTH, Ž.; DRÁB, Š. Antioxidant activity and polyphenol content of malt beverages enriched with bee pollen. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 3, n. 3, p. 281-284, 2014.

STAN, L. Bee pollen as antioxidante ingrediente in ready-to-serve citrus juice. **Scientific papers: Series D, Animal Science**, v. 61, n. 1, p. 312-317, 2018.

STEFENON, R. Vantagens competitivas na indústria cervejeira: o caso das cervejas especiais. **Revista Capital Científico**, v. 10, p. 1-16, 2012.

VENTURINI FILHO, W.G.; CEREDA, M.P. Cerveja. *In*: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; 448 ALMEIDA LIMA, U.; AQUARONE, E. (Org.). **Biotechnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blücher, 2001. Cap. 4. p. 91-144.

VIDRIH, R.; HRIBAR, J. Studies on the sensory properties of mead and the formation of aroma compounds related to the type of honey. **Acta Alimentaria**, v. 36, n. 2, p. 151–162, 2007.

WEILLER, J.; BEZERRA, A.S. Elaboração e análise da atividade antioxidante de cervejas artesanais incorporada de especiarias. **Revista de Educação, Ciências e Tecnologia do IFAM**, v. 11, n. 01, p. 108-120, 2017.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

YERLIKAYA, O. Effect of bee pollen supplement on antimicrobial viability of fermented milk beverage. **Mljekarstvo**, v. 64, n. 4, p. 268-279, 2014.

YU, Z.; ZHAO, H; ZHAO, M.; LEI, H.; LI, H. Metabolic flux and nodes control analysis of Brewer's Yeasts under different fermentation temperature during beer brewing. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, p. 1938-1952, 2012.

ZENEBON, O.; TIGLEA, N.S.P.P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4th ed; Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, Brazil, 2008. p.1020.

ARTIGO 2

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA FERMENTAÇÃO COM MEL MULTIFLORAL DE *Apis mellifera*¹

¹ Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do periódico científico *Brazilian Journal of Food Technology*, em versão na língua inglesa

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAL DE CERVEJAS ARTESANAIS DE ALTA FERMENTAÇÃO COM MEL MULTIFLORAL DE *Apis mellifera*

RESUMO: O mel é um alimento natural produzido pelas abelhas. Quando utilizado na elaboração de bebidas, promove um aumento do teor alcoólico das mesmas, em função sua alta capacidade de fermentação. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e sensoriais de cervejas artesanais elaboradas com mel de *Apis mellifera* em diferentes etapas da produção. Foram elaborados quatro tratamentos de cerveja com adição de 10% de mel em diferentes etapas de produção (controle, fervura, fermentação e priming). As cervejas foram caracterizadas físico-quimicamente quanto ao teor de sólidos solúveis totais, densidade, açúcar redutor, extrato primitivo, pH, acidez total, cor, cinzas, teor alcoólico e grau real de fermentação. As cervejas contendo mel apresentaram maior teor alcoólico e maior grau real de fermentação. A quantidade de açúcar redutor foi similar ao tratamento controle indicando que houve uma conversão total do açúcar do mel. Todas as cervejas foram bem aceitas pelo painel sensorial, com exceção do tratamento fermentação que obteve médias menores para os atributos sabor, amargor e formação de espuma.

Palavras chave: Fermentação alcóolica, produtos da colmeia, tipo *A/e*.

PHYSICAL-CHEMICAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF ARTISANAL BEERS OF HIGH FERMENTATION WITH MULTIFLORAL HONEY OF *Apis mellifera*

ABSTRACT: Honey is a natural food produced by bees. When used in the elaboration of beverages, it increases their alcoholic content, due to its high fermentation capacity. This study assessed physical-chemical and sensorial characteristics of craft beers elaborated with honey in different production stages. We elaborated four beer treatments with 10% honey added in different production stages (control, boiling, fermentation and priming). We characterized the beers physically and chemically regarding total soluble solids content, density, reducing sugar, primitive extract, pH, total acidity, color, ash, alcohol content, and actual fermentation degree. Beers containing honey had higher alcohol content and a higher fermentation degree. The amount of reducing sugar was similar to the control treatment, indicating a total conversion of honey sugar. All beers were well accepted by the sensory panelists, except for the fermentation treatment, which obtained lower averages for the attributes of taste, bitterness, and foaming.

Keywords: Alcoholic fermentation, Hive products, Ale type.

INTRODUÇÃO

O mel é um alimento natural produzido pelas abelhas a partir do néctar das flores, composto principalmente de açúcares e outros constituintes como enzimas, aminoácidos, ácidos orgânicos, carotenoides, vitaminas, minerais e substâncias aromáticas (SILVA et al., 2016; KADRI et al., 2016). Por essas características é um produto utilizado desde a antiguidade para a produção de bebidas alcoólicas, sendo o hidromel a primeira a bebida a utiliza-lo e a mais conhecida (BRUNELLI et al., 2014).

Ao ser utilizado na elaboração de bebidas, o mel promove um aumento do teor alcoólico das mesmas, em função sua alta capacidade de fermentação (KUNZE, 2006; OLIVEIRA et al., 2015). Na produção de cerveja o mel pode ser utilizado como um substituinte parcial do malte ou adicionado ao mosto cervejeiro, geralmente na etapa de fervura, fornecendo açúcares, ou antes do envase, conferindo sabor e aromar ao produto final (KUNZE, 2006; BRUNELLI et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015; KEMPKA et al., 2017).

Nos últimos anos o mercado cervejeiro se deparou com uma crescente produção e consumo de cervejas artesanais. A cerveja artesanal é produzida, principalmente em microcervejarias, que utilizam receitas específicas com diferentes adjuntos e tipos de leveduras (ESTELA-ESCALANTE et al., 2016). Além disso, essas cervejas não são filtradas, pasteurizadas e sem adição artificial de dióxido de carbono. Essas características conferem para o consumidor de cervejas artesanais experiências sensoriais exclusivas e distintas das cervejas tradicionais (GÓMEZ-CORONA et al., 2016; CAPECE et al., 2018).

Contudo, até o momento não se comparou o efeito da adição de mel em diferentes etapas do processo de fabricação de cervejas artesanais. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar físico-quimicamente e sensorialmente cervejas de alta fermentação com adição de mel multifloral de *Apis mellifera* L. em diferentes etapas do processo de fabricação, visando otimizar a produção e verificar a influência deste ingrediente no produto final.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e análises do mel multifloral de *Apis mellifera*

Amostra de mel multifloral de *A. mellifera* foi adquirida no período de setembro a novembro de 2017, em seguida encaminhadas ao laboratório para realizar as seguintes análises físico-químicas: açúcar redutor, sacarose aparente e atividade diastásica (C.A.C. 1990), umidade (ATAGO,1988), hidroximetilfurfural, acidez e pH (A.O.A.C., 2000), teor de cinzas, condutividade elétrica (SANCHO et al. 1991) e cor (VIDAL; FREGOSI, 1984).

Foi determinada também a análise polínica do mel pelo método de acetólise (ERDTMAN, 1960), montadas lâminas com gelatina glicerinada e seladas com verniz incolor. Foi realizada a contagem consecutiva de até 1000 grãos de pólen para a determinação da frequência dos tipos polínicos presentes na amostra. Para verificar a afinidade botânica dos tipos polínicos foi realizada uma comparação com o laminário de referência do Núcleo de Estudo dos Insetos da UFRB e através da consulta de literatura especializada.

Caracterização das cervejas artesanais de alta fermentação com mel multifloral de *Apis mellifera* L.

As matérias-primas utilizadas na produção da cerveja foram selecionadas de acordo com receita criada no aplicativo cervejeiro BeerSmith™ (2018): água mineral, malte tipo *Pilsen*, malte tipo *Caramel Light*, malte tipo *BlackSwan Biscuit*, lúpulo de amargor, mel multifloral (*A. mellifera*) e o fermento cervejeiro (levedura *Ale* da espécie *Saccharomyces cerevisiae*).

As bebidas foram elaboradas de acordo com os seguintes tratamentos:

Controle – cerveja artesanal de alta fermentação com 100% de malte;

Fervura - cerveja artesanal de alta fermentação com 10% de mel multifloral de *A. mellifera* no mosto no momento final da fervura;

Fermentação - cerveja artesanal de alta fermentação com 10% de mel multifloral de *A. mellifera* no mosto no momento da fermentação;

Priming - cerveja artesanal de alta fermentação utilizando o mel multifloral de *A. mellifera* como *priming*;

Para a preparação do mosto cervejeiro o malte seco em grãos (5 kg) foi moído em granulometria desejada e, na sequência feita a mosturação, baseada em depositar 14 litros de água mineral em uma panela de inox, adicionando lentamente o malte moído, com agitação constante. O processo de brasagem foi realizado em um único passo a 65°C durante 45 min, seguido de uma mistura a 78°C durante 10 min. Ao final da mosturação, foi realizado o teste de iodo para confirmação da sacarificação do amido.

Em seguida, o mosto foi separado do bagaço de malte por processo convencional de recirculação e a torta de filtro foi lavada com 10 litros de água aquecida a 76°C, visando aumentar a extração de açúcares remanescentes na casca.

O recipiente contendo os 20 L de mosto foi submetido à fervura por 60 minutos, visando a precipitação das proteínas. Em continuação, iniciou-se o processo de lupulagem, adicionando-se 8 g de lúpulo tipo amargor. Este ponto será considerado o tempo zero da lupulagem. Com isso, marcou-se 50 minutos de fervura e 8 g do mesmo lúpulo foi adicionado no final da ebulição e, aos 55 minutos foi adicionado 8 g de lúpulo e continuou a ferver até os 60 minutos.

Após a fervura (lupulagem), o mosto foi agitado por 5 minutos de forma circular para formar um redemoinho que proporciona que as proteínas coaguladas se sedimentam no centro da panela. Após esta etapa o mosto permaneceu em repouso por 20 minutos.

Em seguida foi efetuada a transferência do mosto limpo que, seguiu diretamente para o balde fermentador. O teor de sólidos solúveis totais do extrato foi corrigido para aproximadamente 14°Brix em cada tratamento, mediante adição de água mineral.

Para a etapa de fermentação, iniciou-se a propagação da levedura. Após 10 minutos, o inóculo propagado foi adicionado ao volume de mosto de cada tratamento. Em seguida, foi feita a homogeneização do mosto adicionando mel no tratamento fervura e após o resfriamento o mel foi adicionado ao tratamento fermentação e na sequência foi adicionado a levedura o qual, foi colocado em fermentadores individuais. A fermentação ocorreu em temperatura de 18°C, em

estufa BOD (Solab) durante 10 dias. Concluída a fermentação, iniciou a etapa de maturação, que consiste em baixar a temperatura para 12 °C, durante 15 dias.

Ao término do tempo de maturação, ocorreu a adição do *priming* (açúcar que tem como objetivo o processo de refermentação da cerveja na garrafa visando a gaseificação), onde foi adicionado 6 g de açúcar por litro de cerveja, no tratamento *priming* foram adicionados 12 g de mel por litro de cerveja, após a homogeneização, a cerveja foi transferida para garrafas com capacidade de 500 mL, devidamente higienizadas e esterilizadas, sendo feito o fechamento das garrafas com tampas de metal e engarrafador manual. As garrafas foram armazenadas em estufa BOD (Solab) por 15 dias à 20°C. Concluída a refermentação, as garrafas foram acondicionadas em temperatura de refrigeração (aproximadamente 5°C) e guardadas para análises posteriores.

Caracterização físico-química das cervejas artesanais de alta fermentação com mel multifloral *A. mellifera*

Para as análises físico-químicas da cerveja as amostras foram descarbonatadas e realizadas seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

pH

A análise foi realizada através de leitura direta em pHmetro, conforme descrito pela AOAC. (2000).

Teor de sólidos solúveis totais (°Brix)

Com um conta-gotas, foi coletada uma pequena quantidade de água destilada e introduzida no prisma do refratômetro para fins e calibração. Em seguida, uma amostra da cerveja foi também coletada e repetiu-se a mesma operação com a água destilada (IAL, 2008).

Densidade

Em uma proveta de 100 mL, transferiu-se aproximadamente 100 mL da amostra de cerveja, e a densidade foi medida através de densímetro, sendo o resultado expresso no próprio equipamento.

Extrato real

O extrato real foi determinado pelo resultado da pesagem do resíduo seco de um volume de 10 mL de cerveja submetido a evaporação. O cálculo utilizado para a obtenção do resultado foi:

$$\text{ExR (\%)} = (100 \times P) / V$$

Onde: ExR (extrato real % m/v);

P = massa do resíduo em g

V = volume da amostra, em mL.

Extrato Primitivo

Obtido por meio de cálculo envolvendo os valores de teor alcoólico e extrato real.

$$\text{EP (\%)} = \frac{[(P \times 2,088) + E_r] \times 100}{[100 + (P \times 1,066)]}$$

Onde: EP (%) = Extrato primitivo, em % m/m;

P = % de álcool em peso;

E_r = % de extrato real.

Grau Real de Fermentação (GRF)

Para o grau real de fermentação, foi realizado o cálculo baseado na porcentagem de álcool e extrato primitivo.

$$\text{Grau Real de Fermentação} = \frac{100 \times A \times 2,0665}{C}$$

Onde: A = % de álcool em peso;

C = % de extrato primitivo.

Teor Alcoólico

A determinação do teor alcoólico da cerveja produzida foi realizada pelo método ebuliométrico, no qual se determina a quantidade percentual de álcool etílico em uma solução alcoólica ao ser fixado o ponto zero na escala do ebuliômetro (ALVES, 2014). O método se baseia na diferença entre os pontos de ebulição da água (100°C) e do álcool (78,4°C), no qual o valor do ponto de ebulição da cerveja produzida deverá se encontrar dentro desta faixa de temperatura. Desta forma, quanto maior a quantidade de álcool presente na amostra utilizada, mais próxima da temperatura de ebulição do álcool puro estará a temperatura de ebulição da amostra.

Acidez Total

A análise de acidez total foi realizada através de técnica de titulação com solução de NaOH 0,1N. O cálculo utilizado para a obtenção do resultado foi:

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

Onde: n = volume em mL de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio;

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio;

V = volume da amostra.

Cor

A cor da cerveja foi analisada usando um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 430 nm, com água como o branco (EBC, 2005).

Açúcar Redutor

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método do DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico) de acordo com o procedimento descrito por Miller (1959), usando a glicose como padrão. Os resultados dos açúcares redutores foram expressos em g L⁻¹.

Análise sensorial

As cervejas foram analisadas sensorialmente por teste afetivo (preferência), com utilização de escala hedônica estruturada de nove pontos, ancorada nas notas de 1 (Desgostei muitíssimo) a 9 (Gostei muitíssimo) (Figura 1), avaliando os parâmetros de aparência, aroma, sabor e avaliação global (LIM, 2011). A análise sensorial foi realizada com alunos dos cursos de graduação e servidores públicos da universidade do Recôncavo da Bahia totalizando 50 pessoas. A quantidade de cerveja ofertada aos provadores foi de 25 ml, na temperatura aproximada de 5°C, servida em copos de acrílico, as quais foram codificadas com números de 3 dígitos. As amostras foram servidas de forma aleatória.

Análise Sensorial de Cervejas com adição de mel apícola																																																																																											
Nome _____ Sexo: _____ Idade: _____ Cabine: _____																																																																																											
Você está recebendo quatro amostras codificadas de cerveja com adição de mel apícola. Por favor, prove as amostras, da esquerda para a direita e indique usando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou de cada atributo. Entre uma amostra e outra beba um pouco de água e aguarde 30 segundos.																																																																																											
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ATRIBUTOS</th> <th colspan="4">AMOSTRAS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>9- Gostei muitíssimo</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>8- Gostei muito</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>7- Gostei</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>6- Gostei pouco</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>5- Nem gostei/</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Nem desgostei</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>4- Desgostei pouco</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>3- Desgostei</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>2- Desgostei muito</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>1- Desgostei muitíssimo</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Aceitação Global</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Aparência</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Corpo</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Aroma</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Amargor</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Sabor</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Formação de espuma</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> </tbody> </table>	ATRIBUTOS	AMOSTRAS				9- Gostei muitíssimo	_____	_____	_____	_____	8- Gostei muito	_____	_____	_____	_____	7- Gostei	_____	_____	_____	_____	6- Gostei pouco	_____	_____	_____	_____	5- Nem gostei/	_____	_____	_____	_____	Nem desgostei	_____	_____	_____	_____	4- Desgostei pouco	_____	_____	_____	_____	3- Desgostei	_____	_____	_____	_____	2- Desgostei muito	_____	_____	_____	_____	1- Desgostei muitíssimo	_____	_____	_____	_____	Aceitação Global	_____	_____	_____	_____	Aparência	_____	_____	_____	_____	Corpo	_____	_____	_____	_____	Aroma	_____	_____	_____	_____	Amargor	_____	_____	_____	_____	Sabor	_____	_____	_____	_____	Formação de espuma	_____	_____	_____	_____
ATRIBUTOS	AMOSTRAS																																																																																										
9- Gostei muitíssimo	_____	_____	_____	_____																																																																																							
8- Gostei muito	_____	_____	_____	_____																																																																																							
7- Gostei	_____	_____	_____	_____																																																																																							
6- Gostei pouco	_____	_____	_____	_____																																																																																							
5- Nem gostei/	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Nem desgostei	_____	_____	_____	_____																																																																																							
4- Desgostei pouco	_____	_____	_____	_____																																																																																							
3- Desgostei	_____	_____	_____	_____																																																																																							
2- Desgostei muito	_____	_____	_____	_____																																																																																							
1- Desgostei muitíssimo	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Aceitação Global	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Aparência	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Corpo	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Aroma	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Amargor	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Sabor	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Formação de espuma	_____	_____	_____	_____																																																																																							
<p>Intenção de compra</p> <p>1 – Decididamente eu compraria</p> <p>2 – Provavelmente eu compraria</p> <p>3 – Talvez sim/ Talvez não</p> <p>4 – Provavelmente eu não compraria</p> <p>5 – Decididamente eu não compraria</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="5">AMOSTRAS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Intenção de compra</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td></td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>_____</td> </tr> </tbody> </table>	AMOSTRAS					Intenção de compra	_____	_____	_____	_____		_____	_____	_____	_____																																																																											
AMOSTRAS																																																																																											
Intenção de compra	_____	_____	_____	_____																																																																																							
	_____	_____	_____	_____																																																																																							
Comentários: _____																																																																																											

Agradecemos sua participação																																																																																											

Figura 1. Ficha de avaliação sensorial utilizada na análise sensorial de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de mel multifloral de *Apis mellifera*.

A presente pesquisa foi registrada na Plataforma Brasil (CAAE: 01060718.9.0000.0056) e aprovada sob o parecer nº3.231.331.

Análise dos dados

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições. Os dados das análises físico-químicas são apresentados com média \pm desvio padrão. A diferença estatística entre os parâmetros físico-químicos do mosto cervejeiro foi verificada pelo teste F da análise de variância e as medias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,005$). A Análise de Variância Multivariada (MANOVA) foi aplicada nos dados da físico-química das cervejas para verificar as diferenças significativas entre os tratamentos, com utilização do teste multivariado Lambda de Wilks. Posteriormente foi utilizada a análise de discriminante canônica para determinar a contribuição de cada variável na discriminação dos grupos de tratamentos. Para verificar se houve diferença estatística entre as notas dadas pelos provadores para os atributos sensorial estudados foi realizado o teste de Kruskal-Wallis. Um mapa de preferência interno foi gerado para os dados de intenção de compra a partir da análise de componentes principais (ACP). Todas análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico R (R Core Team, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise físico-química e polínica do mel

Os resultados das análises físico-químicas do mel multifloral de *Apis mellifera* encontram-se em conformidade com os requisitos de maturidade, pureza, deterioração e acondicionamento preconizados pela legislação brasileira, visto que todos os valores de umidade, açúcares redutores, sacarose aparente, cinzas, acidez, atividade diastásica e hidroximetilfurfural estão dentro dos limites propostos para o controle de qualidade de mel de abelha (BRASIL, 2000), sendo considerado um alimento adequado para o consumo *in natura* e/ou para a produção de subprodutos (Tabela 1).

Por meio da análise polínica do mel foi possível identificar um total de 12 tipos polínicos, associados a espécies botânicas pertencentes a oito famílias e 11 gêneros

(Tabela 2). Os tipos polínicos *Mimosa pudica* (50,50%) e *Mimosa tenuiflora* (39,00%) foram os tipos polínicos com maior frequência na amostra de mel analisada, ambos pertencentes à família Fabaceae. A partir dessa análise é possível confirmar a origem multifloral do mel (BARTH, 1989; BRASIL, 2000).

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos da amostra de mel multifloral de *Apis mellifera* utilizada na elaboração das cervejas de alta fermentação.

Parâmetros Físico-químicos	Mel multifloral <i>Apis mellifera</i>	Legislação Brasileira (BRASIL, 2000)
Umidade (g 100 ⁻¹ de mel)	16,8 ±0,45	Max de 20%
Sólidos solúveis totais (°Brix)	79,60 ±0,00	----
Açúcares redutores (g 100 ⁻¹ de mel)	71,64 ±2,49	Mín. 65
Sacarose aparente (g 100 ⁻¹ de mel)	4,30 ±2,70	Máx. 6
Cinzas (g 100 ⁻¹ de mel)	0,112 ±0,0014	Máx. 0,6
Atividade diastásica (escala Göthe)	20 ±0,00	Mín. 8
Hidroximetilfurfural (mg kg ⁻¹ de mel)	1,65 ±1,03	Máx. 60
Condutividade elétrica (µS cm ⁻¹)	303,30 ±1,55	----
pH	3,53 ±0,02	----
Acidez total (mEq kg ⁻¹ de mel)	31,00 ±0,50	Max. 40
Cor	Extra Âmbar Claro	Incolor a Âmbar escuro
Compostos Fenólicos totais (GAE mL ⁻¹)	69,71 ±1,31	---
Flavonoides totais (CAE mL ⁻¹)	14,02 ±0,51	---

Tabela 2. Frequência dos tipos polínicos da amostra de mel multifloral de *A. mellifera* utilizada na elaboração das cervejas artesanais de alta fermentação.

Família	Tipos polínicos	Frequência (%)
Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i>	0,20
Asteraceae	<i>Baccharis</i>	3,00
	<i>Elephantopus</i>	0,20
	<i>Vernonanthura</i>	1,80
Fabaceae	<i>Chamaecrista</i>	0,20
	<i>Mimosa pudica</i>	50,50
	<i>Mimosa tenuiflora</i>	39,00
Myrtaceae	<i>Eucalyptus</i>	2,50
Polygalaceae	<i>Polygala</i>	0,10
Rubiaceae	<i>Richardia grandiflora</i>	0,20
Sapindaceae	<i>Serjania</i>	2,00
Urticaceae	<i>Cecropia</i>	0,30

Análise físico-química do mosto cervejeiro.

Nos tratamentos onde foram adicionados 10% de mel durante a fervura e a fermentação houve um aumento considerável do conteúdo de açúcares do mosto. Isso pode ser observado pelos valores de sólidos solúveis totais, açúcar redutor e densidade, que foram estatisticamente superiores à formulação do controle (Tabela 3).

Conseqüentemente, o aumento do conteúdo de açúcares aumenta o valor do potencial alcoólico para esses tratamentos. Com base nesses resultados, os mostos com adição de mel na fervura e durante a fermentação podem ser considerados de alta densidade (BLIECK et al., 2007). Mostos cervejeiros de alta densidade podem afetar a atividade fisiológica da levedura bem como seu desempenho fermentativo, alterando a qualidade da cerveja (YU et al., 2012).

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos do mosto cervejeiro de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de mel multifloral de *Apis mellifera*.

Parâmetros	Controle	Fervura	Fermentação	Priming
SST (°Brix)	14,17 ^b	20,30 ^a	20,03 ^a	14,10 ^b
Açúcar redutor (%)	463,14 ^b	539,83 ^a	559,97 ^a	435,34 ^b
Densidade	1056,67 ^b	1081,20 ^a	1080,13 ^a	1056,40 ^b
Teor alcoólico (%)	7,80 ^b	11,13 ^a	11,00 ^a	7,77 ^b
pH	5,59 ^a	5,08 ^a	5,08 ^a	5,55 ^a
Acidez total (meq L ⁻¹)	15,05 ^a	16,33 ^a	16,65 ^a	14,73 ^a

Análise físico-química das cervejas artesanais

A caracterização físico-química mostra que as cervejas produzidas com adição de 10% apresentaram valores dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira para cerveja.

Os tratamentos fervura e fermentação apresentaram o maior teor alcoólico, 9,5 e 9,9%, respectivamente (Tabela 4). Este resultado já era esperado, pois quanto maior a quantidade de açúcares disponíveis para as leveduras no mosto, maior a produção de álcool. Sousa e Fogaça (2019), avaliando o perfil físico-químico de cervejas artesanais e industriais afirmam que cervejas de produção artesanal apresentaram maiores valores para o teor alcoólico.

A adição de mel aumentou o extrato primitivo do mosto. Nos tratamentos avaliados, esse parâmetro variou 15,72% (controle) e 24,90% (fermentação). Segundo a legislação quando o extrato primitivo é $\geq 14,5\%$, as cervejas são classificadas como do tipo forte.

Tabela 4. Parâmetros físico-químicos de cervejas artesanais com adição de mel multifloral de *Apis mellifera*.

Tratamentos		SST	AR	Den	TA	Cin	pH	AC	EX	EP	GRF	Cor
Controle	Média	8,58	2,91	1012,33	4,73	0,18	4,12	22,52	6,62	15,72	62,30	19,43
	DP	0,08	0,21	2,75	0,08	0,01	0,18	0,67	0,34	0,28	1,58	0,66
	Min	8,50	2,66	1010,50	4,65	0,17	3,98	21,77	6,24	15,41	60,80	18,86
	Max	8,67	3,05	1015,50	4,80	0,19	4,32	23,05	6,87	15,96	63,95	20,16
	F	655,00	10,30	9,63	258,10	7,59	9,26	5,67	15,64	186,10	108,70	11,10
	P	<0,0000	0,0040	0,0049	<0,0000	0,0091	0,0056	0,0222	0,0010	<0,0000	<0,0000	0,0032
Fervura	Média	9,61	2,53	1006,50	9,53	0,17	3,80	25,08	6,22	23,71	83,07	19,63
	DP	0,04	0,69	0,50	0,23	0,00	0,04	1,82	0,08	0,32	0,90	0,88
	Min	9,57	1,78	1006,00	9,40	0,17	3,75	23,05	6,13	23,50	82,46	18,86
	Max	9,63	3,12	1007,00	9,80	0,17	3,84	26,57	6,29	24,08	84,10	20,59
	F	655,00	10,30	9,63	258,10	7,59	9,26	5,67	15,64	186,10	108,70	11,10
	P	<0,0000	0,0040	0,0049	<0,0000	0,0091	0,0056	0,0222	0,0010	<0,0000	<0,0000	0,0032
Fermentação	Média	10,70	4,31	1012,00	9,97	0,17	3,75	26,14	7,07	24,90	82,77	19,49
	DP	0,06	0,26	0,87	0,45	0,00	0,05	1,03	0,10	0,55	2,95	0,79
	Min	10,67	4,12	1011,00	9,45	0,17	3,70	24,97	6,98	24,44	79,89	18,71
	Max	10,77	4,60	1012,50	10,25	0,17	3,79	26,89	7,17	25,51	85,79	20,30
	F	655,00	10,30	9,63	258,10	7,59	9,26	5,67	15,64	186,10	108,70	11,10
	P	<0,0000	0,0040	0,0049	<0,0000	0,0091	0,0056	0,0222	0,0010	<0,0000	<0,0000	0,0032
Priming	Média	8,28	2,25	1010,33	5,12	0,18	4,02	25,40	6,20	16,32	64,82	16,61
	DP	0,10	0,62	0,58	0,32	0,00	0,05	0,67	0,03	1,01	1,38	0,66
	Min	8,17	1,61	1010,00	4,75	0,17	3,98	24,65	6,17	15,34	63,98	16,00
	Max	8,37	2,85	1011,00	5,35	0,18	4,09	25,93	6,23	17,35	66,41	17,31
	F	655,00	10,30	9,63	258,10	7,59	9,26	5,67	15,64	186,10	108,70	11,10
	P	<0,0000	0,0040	0,0049	<0,0000	0,0091	0,0056	0,0222	0,0010	<0,0000	<0,0000	0,0032

Sólidos solúveis totais (SST), Açúcar Redutor (AR), Densidade (Den), Teor Alcoólico (TA), Cinzas (Cin), Acidez total (AC), Extrato Real (EX), Extrato primitivo (EP), Grau Real de Fermentação (GRF)

As diferenças entre os tratamentos estudados foram verificadas pelo teste multivariado Lambda de Wilks com base nos parâmetros físico-químicos, considerando as relações existentes entre elas ($p < 0,0005$) (Tabela 5). Esse teste indicou diferença significativa entre os tratamentos na primeira função discriminante canônica (FDC₁).

A FDC₁ apresentou correlação canônica de 0,9880 e explicou 95,49% da variabilidade dos dados, uma porcentagem elevada que permite explicar com precisão a variabilidade das informações do conjunto de dados (Tabela 5). O alto valor da correlação canônica na FDC₁ indica elevada associação entre as variáveis. A primeira função canônica sempre explicará a maior variabilidade dos dados, sendo considerada a mais importante (GONÇALVES et al., 2019).

Tabela 5. Teste multivariado Lambda de Wilks (aproximação da distribuição F) para as três funções canônicas.

Função discriminante canônica (FDC)	Correlação Canônica	Autovalor	% da variância	Cumulativo (%)	p-valor
FDC ₁	0,9980	499,3498	95,4911	95,4910	<0,000
FDC ₂	0,9555	21,4608	4,1039	99,5950	0,2464
FDC ₃	0,6792	2,1174	0,4049	100,0000	0,5239

A partir dos dados dos coeficientes de função discriminantes padronizados é possível observar que os tratamentos com maiores pesos na separação para a primeira discriminante canônica (Can 1) foram: fervura (CCP = -21,9622) e controle (CCP = 21,0334) (Tabela 6). As variáveis grau de fermentação (CCP = -21,7696), teor alcoólico (CCP = -21,6013) e extrato primitivo (CCP = -21,3615) apresentaram maior peso canônico na distinção das variáveis, o que contribuiu para a discriminação dos tratamentos, indicando que essas variáveis foram as mais influenciadas pela a adição de mel nas cervejas.

Os tratamentos fervura e fermentação apresentaram maiores valores para as variáveis grau de fermentação, teor alcoólico e extrato primitivo, devido ao aumento da quantidade de açúcares fermentescíveis presentes no mel. Segundo Brunelli et al. (2014), mostos cervejeiros com adição de mel possuem maior quantidade de açúcares fermentescíveis (frutose e glicose) quando comparado ao mosto puro de malte (controle) que são ricos em dextrina.

Como as duas primeiras funções canônicas apresentam variação acumulada de 99,59% foi realizada a análise discriminante canônica por meio da dispersão dos escores via *biplot* canônico, onde os eixos são as referidas funções de correlação canônica e construído gráficos *boxplots* dos *scores* para a função discriminante canônica 1 (Figura 2).

Tabela 6. Coeficientes canônicos padronizados (CCP) das duas primeiras funções discriminantes canônicas (FDC) de 5 variáveis analisadas.

Tratamentos	Discriminante Canônica 1 (Can1)	Discriminante Canônica 2 (Can2)
Controle	21,0334	-0,7946
Fermentação	-14,1348	-5,7226
Fervura	-21,6922	4,4014
<i>Priming</i>	14,7935	2,1158
	Variáveis	
Açúcar Redutor	-7,3784	-18,7147
Densidade	11,8407	-16,0765
Teor Alcoólico	-21,6013	-4,9475
Cinzas	18,5917	-0,8478
pH	18,8908	4,3193
Acidez	-11,8261	-3,0817
Extrato Primitivo	-21,3615	-5,7635
Grau Real de Fermentação	-21,7696	-3,1162

De acordo com o *boxplots* dos *scores* para a função discriminante canônica 1 (Figura 1 - A), o tratamento controle sem a adição de mel foi discriminada dos demais tratamentos, apresentando maiores valores para as variáveis pH e cinzas. A adição de mel em cervejas contribui para a diminuição do pH e conseqüentemente o aumento da acidez. Valores baixos de pH contribuem para conservação das cervejas, pois impede a proliferação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (OLIVEIRA et al., 2015).

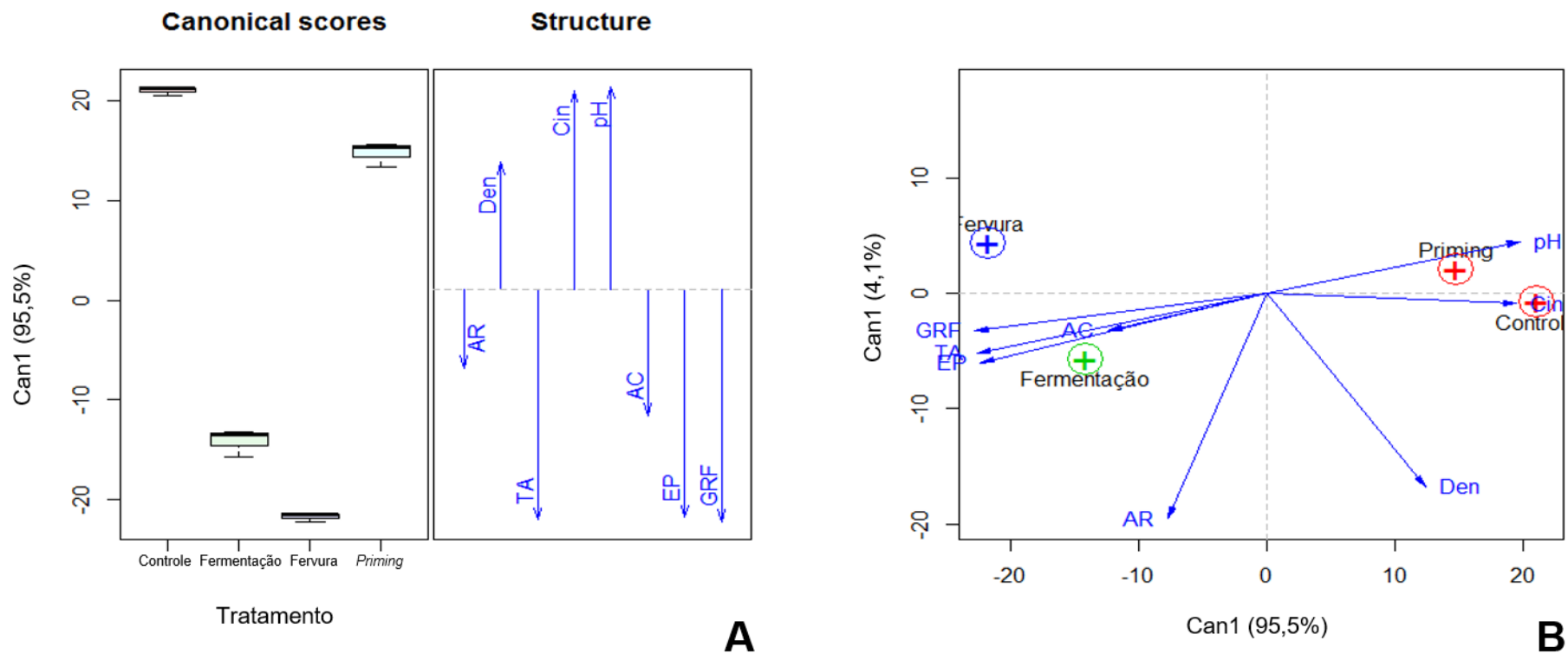


Figura 2. Análise discriminante canônica para as cervejas artesanais com adição de mel de *Apis mellifera* L. (A) Gráficos *boxplots* dos *scores* para a função discriminante canônica 1 e Gráficos de barras das funções discriminantes e os vetores representam a influência de cada variável analisada. (B) *Biplot* da análise discriminante canônica para a correlação entre os diferentes tratamentos de cerveja calculadas com base em oito variáveis. Açúcar Redutor (AR), Densidade (Den), Teor Alcoólico (TA), Cinzas (Cin), Acidez Total (AC), Extrato Primitivo (EP), Grau Real de Fermentação (GRF).

Pela análise discriminante canônica na Figura 2-B, o eixo da primeira função discriminante canônica (Can1) foi significativamente o mais importante para a discriminação dos quatro tratamentos em 2 grupos, sobre as variáveis estudadas. O tratamento controle e o *priming* formaram o primeiro grupo, por apresentarem comportamentos similares para as variáveis cinzas, pH e densidade.

Em relação ao teor de cinzas o tratamento controle e o *priming* apresentaram a maior média de $0,18 \pm 0,01$ (Tabela 3), indicando que adicionar 10% de mel durante a fervura e a fermentação diminui o teor de cinzas. O conteúdo de cinzas do malte foi em média, de 1,97% (VENTURINI et al., 1996) enquanto que o teor de cinzas do mel utilizado nas cervejas foi de $0,11 \pm 0,00$ (Tabela 2). Resultados similares ao nosso estudo foram verificados por Brunelli et al. (2014), onde a cerveja puro malte apresentou teor de cinzas superior aos de cerveja com substituição parcial do malte por mel de *Apis mellifera*.

O tratamento controle e fermentação apresentaram maiores médias para densidade, $1012,33 \pm 2,75^{\circ}\text{OG}$ e $1012,00 \pm 0,87^{\circ}\text{OG}$. A menor média para essa variável foi verificada no tratamento fervura ($1006,50^{\circ}\text{OG}$). Nesse tratamento as leveduras obtiveram melhor desempenho metabólico na conversão de açúcares em álcool. Em relação as variáveis açúcar redutor e extrato real (Tabela 3) o tratamento fervura apresentou médias similares ao tratamento controle e *priming*. Esses resultados indicam que no tratamento em que o mel foi adicionado na fervura os microrganismos assimilaram todo açúcar disponível. A temperatura em que o mel foi adicionado pode ter influenciado no consumo desses açúcares pela levedura.

O segundo grupo é formado pelos tratamentos fervura e fermentação que apresentaram maiores valores para as variáveis grau de fermentação, teor alcoólico e extrato primitivo. O tratamento fervura apresentou a maior média para o grau de fermentação ($83,07 \pm 0,90\%$), confirmando que nesse tratamento houve uma maior conversão de açúcares em álcool, visto que esse parâmetro mede a quantidade de açúcares do mosto que foram transformados em álcool (PATINDOL et al., 2012). Esses valores são superiores aos de cervejas artesanais com substituição de 10, 20 e 30% de malte por mel, nessas cervejas o GRF aumentou de acordo com a concentração de mel com o valor máximo de 64,49% com 30% de mel (OLIVEIRA et al., 2015).

Análise Sensorial

Todos os atributos obtiveram média próximas a 7 que representa “gostei” na ficha de avaliação (Tabela 7). Com exceção apenas para o tratamento fermentação que recebeu notas menores para os atributos, formação de espuma, sabor e amargor.

Tabela 7. Atributos sensorial de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de mel de *Apis mellifera* L.

Tratamento	Controle	Fervura	Fermentação	Priming
Apreciação Global	7,20±1,23 ^a	6,90±1,25 ^{ab}	6,16±1,92 ^b	7,20±1,50 ^a
Aparência	7,22±1,22 ^b	7,22±1,07 ^b	6,44±1,40 ^c	7,62±1,21 ^a
Corpo	6,76±1,36 ^{ab}	6,9±1,34 ^{ab}	6,34±1,45 ^b	7,02±1,22 ^a
Aroma	7,16±1,38	7,08±1,43	6,78±1,75	6,98±1,58
Amargor	6,64± 1,75 ^a	6,18±1,80 ^{ab}	5,58±2,12 ^b	6,26±1,80 ^{ab}
Sabor	7,02±1,57 ^a	6,28±1,60 ^b	5,4±2,08 ^c	6,64±1,84 ^{ab}
Formação de Espuma	6,92±1,43 ^{ab}	6,58±1,37 ^b	4,86±1,98 ^c	7,28±1,47 ^a

Médias com a mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo Kruskal-Wallis a 5% de significância.

O atributo aroma não diferiu estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$), indicando que os provadores não perceberam diferença entre os tratamentos para este atributo. Os demais atributos diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os tratamentos em estudo. Verificou-se que as médias foram similares entre os tratamentos, o que pode estar relacionado ao fato de os provadores não serem treinados e não terem o hábito de consumir cervejas artesanais.

De modo geral as cervejas foram aprovadas pelo painel de provadores obtendo-se em média a nota 7,20 para os tratamentos controle e *priming*, 6,90 e 6,16 para os tratamentos fervura e fermentação, respectivamente para o atributo aceitação global. Médias entre 6 e 7 significam que os provadores classificaram sensorialmente as cervejas entre “gostei pouco” a “gostei”. Em cervejas com adição de diferentes porcentagens de acerola e abacaxi a média para este atributo na cerveja com 20% de acerola e 20% de abacaxi, foi de (6,20) (PINTO et al., 2015).

Para o atributo sabor o tratamento controle obteve média (7,02) não diferindo estatisticamente do *priming* (6,64). Médias similares a estas foram observadas em cervejas artesanais com substituição de mosto de malte por mel em diferentes porcentagens. Cervejas com 40% de mel obtiveram a maior média (6,63) (BRUNELLI e VENTURINI FILHO, 2014). Segundo Jardim et al. (2018) o sabor é o atributo sensorial de maior importância para consumidores de cervejas artesanais.

Quanto ao atributo formação de espuma o tratamento com menor média foi fermentação (4,86), neste tratamento não ocorreu formação de espuma. Foi possível observar que no tratamento *priming* a consistência e persistência da espuma foi maior nos outros tratamentos, assim podemos inferir que a substituição do açúcar por mel durante o engarrafamento melhorou a consistência e persistência da espuma.

As notas obtidas através da análise sensorial refletem a preferência por cervejas comerciais. As cervejas desenvolvidas nesse estudo são cervejas que possuem aroma e sabor mais complexos, devido adição de mel. Desta forma, para pesquisas posteriores seria importante selecionar provadores que tenham o hábito de consumir cervejas artesanais com maior frequência. Para isso poderia ser realizada uma pesquisa prévia sobre a frequência de consumo de cerveja além da preferência quanto ao tipo (estilo) de cerveja, para um maior entendimento dos hábitos dos consumidores.

O mapa de preferência interno para a intenção de compra foi obtido a partir da análise de componentes principais. O componente principal 1 (CP1) ordena espacialmente os tratamentos com maior intenção de compra à direita do eixo. Os tratamentos controle (A) e *priming* (D) foram os que receberam a maior quantidade de notas 1 (“decididamente compraria”) e 2 (“provavelmente compraria”) e também foram os mais similares quanto a esse parâmetro, devido à proximidade gráfica dessas amostras, formando um grupo. O tratamento fermentação (C) foi o menos aceito para este atributo, dada a baixa concentração de pontos que representam os avaliadores próximos a essa amostra (Figura 3).

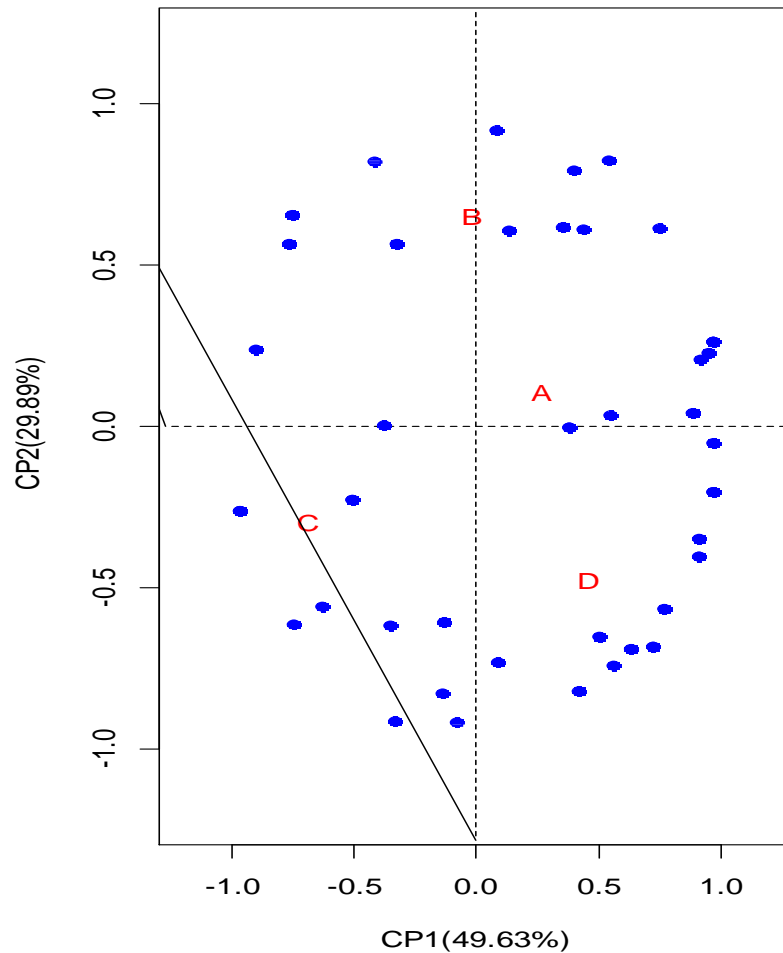


Figura 3. Mapa de preferência interno referente à intenção de compra de cervejas artesanais de alta fermentação com adição de mel multifloral de *Apis mellifera*.

CONCLUSÃO

A adição de mel multifloral *Apis mellifera* em mostos de cervejas de alta fermentação contribuiu para o aumento do extrato primitivo, fazendo com que as cervejas atingissem um maior teor alcóolico e maior grau de fermentação. Todas as cervejas foram bem aceitas pelo painel sensorial, com exceção do tratamento fermentação que obteve médias menores para os atributos sabor, amargor e formação de espuma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 17th ed. Virginia, 2000.

ATAGO. Refratômetro para mel. **Abelhas**, v. 31, n. 362/363, p. 9; 11-12; 41; 44, 1988.

BeerSmith™- Home Brewing Software. Disponível em: < <http://beersmith.com/>>. Acessado em: 17 de março de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 11, de 20 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Mel. Diário Oficial da União, de 23 de outubro de 2000, Seção 1, p. 23, 2000.

BLIECK, L.; TOYE, G.; DUMORTIER, F.; VERSTREPEN, K.J.; DELVAUX, F.R.; THEVELEIN, J.M.; VAN DIJCK, P. Isolation and characterization of brewer's yeast variants with improved fermentation performance under high-gravity conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 3, p. 815-824, 2007.

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

CAPECE, A.; ROMANIELLO, R.; PIETRAFESA, A.; SIESTO, G.; PIETRAFESA, R.; ZAMBUTO, M.; ROMANO, P. Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added. **International Journal of Food Microbiology**, v. 284, p. 22–30, 2018.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Official methods of analysis**. v. 3, Suppl. 2, 1990.

EBC - EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica – EBC**. 5th ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 2005.

ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, Stockholm, v.39, p.561-564, 1960.

ESTELA-ESCALANTE, W.D.; ROSALES-MENDOZA, S.; MOSCOSA-SANTILLÁN, M.; GONZÁLEZ-RAMÍREZ, J.E. Evaluation of the fermentative potential of *Candida zemplinina* yeasts for craft beer fermentation. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 122, p. 530–535, 2016.

GÓMEZ-CORONA, C.; LELIEVRE-DESMAS, M.; BUENDÍA, H.E.B.; CHOLLET, S.; VALENTIN, D. Craft beer representation amongst men in two different cultures. **Food Quality and Preference**, v. 53, p. 19–28, 2016.

GONÇALVES, K.S.; PAZ, V.P.S.; SILVA, F.L.; HONGYU, K.; ALMEIDA, W.F. Potassium phosphite and water deficit: physiological response of *Eucalyptus* using multivariate analysis. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 3; 2019

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p.

JARDIM, C.C.; SOUZA, D.; MACHADO, I.C.K.; PINTO, L.M.N.; RAMOS, R.C.S.; GARAVAGLIA, L. Sensory profile, consumer preference and chemical compositions of craft beers from Brazil. **Beverages**, v. 4, p. 106-118, 2018.

KADRI, S.M.; ZALUSKI, R.; PEREIRA-LIMA, G.P.; MAZZAFERA, P.; OLIVEIRA-ORSI, R. Characterization of *Coffea arabica* monofloral honey from Espírito Santo, Brazil. **Food Chemistry**, v. 203, p. 252–257, 2016.

KAWA-RYGIELSKA, J.; ADAMENKO, K.; KUCHARSKA, A.Z.; PROROK, P.; PIÓRECKIC, N. Physicochemical and antioxidative properties of Cornelian cherry beer. **Food Chemistry**, v. 281, p. 147-153, 2019.

KEMPKA, A.P.; THOMÉ, B.C.; CONTO, R.M.; Produção de cerveja artesanal tipo *ale* utilizando mel de diferentes floradas como adjunto. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 8, n. 1, p. 105-125, 2017.

KUNZE, W. La cerveza terminada. In: KUNZE, W. **Tecnología para cerveceros y malteros**. Berlín: VLB Berlin, 2006., p. 826-885.

MILLER, G. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

OLIVEIRA, M.D.; FABER, C.R.; PLATA-OVIEDO, M.S.V. Elaboração de cerveja artesanal a partir da substituição parcial do malte por mel. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 6, p. 1-10, 2015.

PINTO, L.I.F.; ZAMBELLI, R.A.; SANTOS-JUNIOR, E.C.; PONTES, D.F. Desenvolvimento de cerveja artesanal com acerola (*Malpighia emarginata* DC) e abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill). **Revista Verde**, v. 10, n. 4, p. 67 - 71, 2015.

PATINDOL, J., MENDEZ-MONTEALVO, G., & WANG, Y. J. Starch properties of malted barley in relation to real degree of fermentation. *Starch-Stärke*, 64(7), 517–523, 2012.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. 2018.

SILVA, P.M.; GAUCHE, C.; GONZAGA, L.V.; COSTA, A.C.O.; FETT, R. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, v. 196, p. 309–323, 2016.

SOUSA, V.M.; FOGAÇA, L.C.S. Perfil físico-químico de cervejas artesanais e industriais e adequação dos rótulos quanto à sua graduação alcoólica. **Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v.13, n.43, p. 440-447, 2019.

YU, Z.; ZHAO, M.; LI, H.; ZHAO, H.; ZHANG, Q.; WAN, C.; LI, H. A comparative study on physiological activities of lager and ale brewing yeasts under different gravity conditions. *Biotechnology and Bioprocess Engineering, Korean*, v. 17, n. 4, p. 818-826, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elaboração de cervejas artesanais com adição de pólen e mel de *Apis mellifera* permitiu obter produtos de qualidade, dentro dos padrões estabelecidos pelos órgãos regulamentadores e aprovados por possíveis consumidores.

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que cervejas produzidas com adição de pólen ou mel podem se destacar como um atrativo ao consumidor por se tratar de um produto de alto valor nutricional, valorizando não somente a bebida como também a cultura nacional, por meio do uso de um produto conhecido e apreciado mundialmente.

Além disso, a produção de cerveja artesanal com a utilização dos produtos apícolas abre mais uma possibilidade de geração de renda para os apicultores, que certamente terá um nicho de mercado especializado, além do estímulo para continuar a criação das abelhas, organismos importantes na polinização da flora nativa e de interesse agrônomo.