

ESTUDO DE DIFERENTES ERVAS PARA SUBSTITUIÇÃO DO LÚPULO NA PREPARAÇÃO DE CERVEJAS PILSEN.

Emanuele Dal Pisol Schwab* (PIBIC/CNPq-UNICENTRO), João Paulo Niemes (PG), Marcos Roberto da Rosa (Orientador), Leiziani Gnatkowski Martins, Najeh Khalil e-mail: manu_schwab@hotmail.com.

Universidade Estadual do Centro-Oeste/Departamento de Química/Guarapuava, PR.

CIENCIAS EXATAS E DA TERRA/QUÍMICA/QUÍMICA ORGÂNICA

Palavras-chave: amargor, lúpulo, extração

Resumo: Este trabalho aborda a extração e caracterização de ervas amargas para a substituição do lúpulo na cerveja. Podendo destacar-se a abertura de novas portas no ramo da produção de cervejas e possibilitando também que novas matérias-primas sejam empregadas no processo. Podendo acarretar redução no custo de produção e novas características possam ser empregadas na bebida. A caracterização dos extratos foi feita por espectrofotometria de ultravioleta, FAAS, Teste biológicos HOCl, ABTS e HOBr, sendo realizado ainda a determinação da acidez total.

Introdução

A cerveja é uma bebida que não passa pelo processo de destilação, obtida a partir do processamento do malte (geralmente de cevada), gerando-se o chamado mosto cervejeiro. O qual posteriormente é fermentado para obtenção da cerveja, sendo facultativa a adição de outra fonte amilácea ou lúpulo. Os relatos do início de sua produção remetem a Babilônia por volta de 6000 a.C. sendo nos dias atuais uma das bebidas mais consumidas no mundo, com uma média per capita de 21,9 L/ano. Já no Brasil, por se tratar de um país subtropical, o consumo de cerveja é de 47,6 L/ano e a produção nacional só perde em volume para a China (35 bilhões de L/ano), Estados Unidos (23,6 bilhões de L/ano) e Alemanha (10,7 bilhões de L/ano) (ALMEIDA, 2011. COSTA, 2009. SIDOOSKI, 2011).

O lúpulo foi adicionado no preparo da cerveja no século XII por se tratar de uma erva com propriedades conservantes e mais facilmente acessível nas regiões onde se atribui o início de sua produção. Devido as condições climáticas favoráveis pode-se atingir nestas regiões alta qualidade. Sendo a região de Hallertau na Alemanha uma das maiores produtoras mundiais desta matéria-prima. Contudo, levou alguns anos para que se aceitasse o novo sabor a cerveja após a adição do lúpulo, sendo que a explicação mais aceita da atribuição de seu uso foi por propiciar o aumento da longevidade do produto (CERVESIA, 2013. ALMEIDA, 2011. COSTA, 2009. SIDOOSKI, 2011).

Devido aos fatos anteriormente mencionados surge a possibilidade de estudo de novas matérias-primas amargas, que possam substituir o lúpulo criando novos estilos de cerveja, uma vez que existem substâncias como o cacau, erva mate e o café verde que não existem nas regiões onde se produz lúpulo, e que possuem algumas propriedades similares.

Materiais e métodos

Extração das matérias primas amargas

A extração das substâncias amargas contidas nas matérias-primas foi realizada em meio aquoso em diferentes temperaturas de fervura, sendo elas: 40, 60 e 100°C. Com isso determinou-se as melhores condições para a extração dos compostos amargos e óleos essenciais contidos para o mosto, de modo a que se pudesse transmitir o máximo possível das propriedades benéficas de cada tipo de matéria-prima empregada no processo.

Determinação do Amargor dos extratos

Foi determinado pelo método 8.8 do Analytica-EBC, o qual é recomendado pelo European Brewery Convention. Onde as amostras foram previamente filtradas com papel de filtro, seguindo-se a retirada de uma alíquota de 10,0 mL para acidificação com 0,5mL de ácido clorídrico 6M. Em seguida, adicionou-se 20,0 mL de iso-octano e colocou-se sob agitação durante 15 minutos, extraíndo assim os compostos amargos do extrato para o iso-octano. A amostra foi transferida para cubeta de 10 mm de percurso ótico e realizou-se sua medida espectrofotometria de ultravioleta a 275nm. O amargor das amostras é expresso em unidade de amargor (UA), sendo esse valor calculado segundo a equação 1.:

$$\text{Amargor}_{(UA)} = A_{b275nm} \times 50$$

Determinação de minerais

A determinações dos íons Ca, Mg, K, Fe, Al e Ni por Espectrometria de Absorção Atômica com chama foram feitos utilizando-se soluções padrão Titrisol MERCK no preparo da curva de calibração (a solução eluente, H₂O, foi utilizada como branco). As condições operacionais utilizadas foram as descritas no manual do fabricante do equipamento (Varian, SpectraA 220). A quantificação foi feita por integração do pico da absorvância medida.

Teste HOCl (Hypochlorous acid scavenging)

O ensaio foi realizado como descrito por Paino et al. (2005) modificado. A solução de HOCl (2mmol.L⁻¹) foi obtido a partir de hipoclorito de sódio doméstico diluído este em NaOH 0,05mol.L⁻¹ e a concentração foi determinada espectrofotometricamente a 292 nm ($\epsilon = 350 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). A solução de TBM 0,014 mol.L⁻¹ foi preparada por dissolução do TBM em dimetilformamida, ácido acético (0,8 mol.L⁻¹) e em iodeto de potássio (0,01 mol L⁻¹) Diferentes concentrações das amostras diluídas em tampão PB foram incubadas com HOCl 50 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ durante 10 min a 37 ° C. Após este tempo o HOCl restante foi revelado pela adição de TMB, cuja absorvância é medida em 652 nm.

Teste ABTS

O ensaio utilizando ABTS como foi realizado segundo Re et al. (1999) modificado. A geração do radical ABTS ocorreu por incubação de 2,2'-azino-bis-2-ethybenz-tiazolina-6-sulfônico (ABTS) (7 mm) com persulfato de potássio (140 mm) em água purificada. A solução foi armazenada a temperatura ambiente no escuro durante pelo menos 12 h. Após este período, o ABTS • + foi diluído em tampão PB, pH 7,4, obtendo-se um valor de absorvância de $\pm 734 \text{ nm}$. Em seguida, alíquotas das soluções dos extratos foram misturados com a solução diluída de ABTS • +, e a absorvância foi medida imediatamente a 734 nm.

Teste HOBr (Hypobromous acid scavenging)

A solução de HOBr foi obtida por mistura de NaBr (0,0008 mol.L⁻¹) com HOCl (0,003 mol.L⁻¹) e a sua concentração foi determinada espectrofotometricamente a 330 (ε = 332 M⁻¹.cm⁻¹) (.As amostras diluídas em tampão PB foram incubadas com HOBr 50 μmol.L⁻¹ durante 10 min a 37 ° C. Após este tempo, o HOBr restante foi revelada pela adição de TMB, que tem uma absorção máxima de 652 nm.

Acidez total

Foi realizado por meio de titulação ácido-base com NaOH, padronizada com solução de ácido oxálico. Foi empregado o indicador fenolftaleína, aplicando-se os cálculos segundo a equação 2.

$$\text{Acidez Total (meq/L)} = V_{(\text{gasto de NaOH})} \times 10$$

As caracterizações físico-químicas de acidez total e índice de refração foram realizadas segundo os métodos padrões descritos em Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (ZENEBON, 2008).

Resultados e Discussão

A fim de comparar e determinar se os extratos eram interessantes para a substituição de lúpulo na preparação de cerveja, foram avaliados vários parâmetros. Na primeira etapa do estudo, a partir de uma análise sensorial fora dos padrões com provadores treinados, determinou-se que a melhor condição de extração para as diferentes matérias-primas foi a mesma empregada na produção de cervejas, ou seja, 100°C. Dentre as matérias-primas estudadas (Erva-mate, Artemísia, Anis, Cacau e Café-Verde), determinou-se pela análise sensorial que os extratos de Artemísia e Café-Verde apresentavam amargor e características sensoriais mais próximas do lúpulo. Em seguida foram determinados alguns parâmetros para essas matérias-primas amargas.

Tabela 1. Determinação dos parâmetros físico-químicos e biológicos dos extratos obtidos.

Amostra	Amargor UA	Acidez Total meq/L
Artemísia	6,09	4
Café Verde	6,235	12
Lúpulo	108,84	13

Como a metodologia empregada foi a mesma utilizada para o lúpulo, percebe-se que os valores de amargor para Café-Verde e Artemísia foram parecidos, porém, quando se comparado com o lúpulo, são valores muito baixos. Assim, precisa-se ser feita uma otimização do método de determinação. Uma varredura mais ampla ou até mesmo método de extração das substancias amargas são parâmetros a serem estudados. Quando se trata de acidez total, percebe-se que o valores encontrados seguem uma mesma característica, o que é interessante pois é esse o comportamento que se esperava.

Tabela 2. Determinação de minerais nos extratos obtidos.

Amostra	Ca	Mg	K	Fe	Al	Ni
Artemísia	10,3±0,5	17,8±0,4	410,30±1,4	0,126±0,009	1,35±0,02	0,094±0,005
Café Verde	17,7 ± 0,3	44,8 ± 0,1	487,3 ± 0,8	0,091 ± 0,007	1,04±0,03	0,097±0,011
Lúpulo	22,6 ± 0,3	31,4 ± 0,2	686,2 ± 0,7	0,004 ± 0,003	0,94± 0,06	0,083±0,002

Valores apresentados como Média ± SD.

Assim como para os valores de acidez, os valores encontrados para minerais também foram interessantes, pois seguem o mesmo padrão do lúpulo. Para uma

melhor compreensão das propriedades dos extratos obtidos, foram realizados os testes antioxidantes ABTS, HOCl e HOBr, sendo os valores de IC50 mostrados na tabela 3.

Tabela 3. Resultados dos testes antioxidantes realizados com os extratos.

Amostra	ABTS	HOCl	HOBr
Artemísia	26,61 µg	6,520 µg	8,50 µg
Café Verde	8,022 µg	3,167 µg	13,647 µg
Lúpulo	30,459 µg	2,523 µg	3,32 µg

*Os valores apresentados para os testes ABTS, HOCl e HOBr são relativos ao IC50.

Para o radical gerado pelo ABTS pode-se observar que para se obter o IC50 necessitou-se de uma massa de aproximadamente 3,8 vezes menor de café verde se comparado com o lúpulo e Artemísia, mostrando uma maior eficiência na captura destes radicais livres pelos componentes desta matéria-prima. Já para o teste utilizando HOCl o café verde foi quem apresentou melhor resultado dentre os substituintes propostos, tendo uma massa próxima do lúpulo. Para o método empregando o radical gerado por HOBr a Artemísia se sobrepõe ao café verde em eficiência de captura dos radicais gerados, contudo a massa necessária para atingir o IC50 é mais do que dobro do lúpulo.

Conclusões

Percebe-se, a partir dos resultados obtidos, que as matérias primas estudadas têm grande potencial para a substituição total ou parcial do lúpulo no preparo de cervejas. Assim, podem-se diminuir custos de produção e enriquecer a bebida com novas características. Concentrações ainda precisam ser estudadas e métodos ainda precisam ser otimizados, porém percebe-se desde já que essas e outras ervas podem ser estudadas alcançando o objetivo proposto.

Agradecimentos

Agradeço ao professor Marcos Roberto da Rosa e ao João Paulo Niemes por me auxiliarem ao longo de toda pesquisa, agradeço também ao CNPQ por tornar possível que o projeto fosse realizado e cumprido em sua totalidade.

Referências

- Almeida, N.E.C. *Reatividade de iso-|-ácidos e seus derivados hidrogenados frente ao radical 1-hidroxietina: implicações na perda de qualidade sensorial da cerveja*. São Carlos – SP. 2011.
- Cervesia. *Tecnologia cervejeira*. Disponível em www.cervesia.com.br. Acesso em 13 de setembro de 2013.
- Costa, M.C. *Utilização de alta pressão para aumentar o teor de xanto-humul no mosto de cerveja*. Aveiro – PT. 2009.
- Paino, I.M.M.; Ximenes, V.F.; Fonseca, L.M.; Kanegae, M.P.P.; Khalil, N.M.; Brunetti, IL. *Effect of therapeutic plasma concentrations of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the production of reactive oxygen species by activated rat neutrophils*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.38, n.4, p.543-551, 2005.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

Sidooski, T. *Processo de Produção de Cerveja Puro Malte do Tipo Pale Ale*. Blumenal – SC. 2011.

Zenebon, O.; Pascuet, N. S.; TIGLEA, P.; *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo. 2008.