



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS NA CERVEJA,
CHOPP, CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) E NO BAGAÇO DE BRASSAGEM**

Gisele Laisa de Freitas

Florianópolis
2006

Gisele Laisa de Freitas

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS NA CERVEJA,
CHOPP, CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) E NO BAGAÇO DE BRASSAGEM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof^ª Dr^ª Roseane Fett

Co-orientador: Dr^ª Eugênia Marta Kuskoski

Florianópolis

2006

De todo o coração, aos meus pais LUIZ E IVONE, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a DEUS, fonte de luz e de sabedoria que tem iluminado meus caminhos e permitido a realização dos meus sonhos;

À minha orientadora, Prof. (a) Dr.(a) Roseane Fett, a qual tenho muito a agradecer por todas oportunidades que tem me proporcionado, como também pelo apoio....muito obrigada;

À Dr.(a) Eugenia Marta Kuskoski, minha orientadora, por me impulsionar a ir em frente sempre, pela sua ajuda desde o princípio, principalmente pelo seu esforço e dedicação;

Aos amigos do laboratório de química, Luciano, Márcia, Ciriele, Lucas e Graci, que não mediram incentivos para que eu prosseguisse e estenderam a mão, nos momentos de maior dificuldade;

À minha parceira e AMIGA de laboratório Bianca H. Beal, por todo o seu carinho e sua atenção, pela sua tranquilidade e preocupação, com tudo e com todos;

Aos professores do departamento de ciência e tecnologia de alimentos, que contribuíram com toda a sua sabedoria e seus ensinamentos transmitidos;

A empresa Cervejaria da Ilha LTDA – Chopp Ilhéu/ Florianópolis, em especial ao Sr. Reinoldo, pela colaboração e pela gentileza do envio das amostras de bagaço, cevada e chopp.

A empresa Cervejaria Sudbrack LTDA – Eisenbahn/ Blumenau, em especial ao Sr. Juliano, pelo envio das amostras de cervejas.

Aos funcionários do Departamento, pela convivência e companheirismo;

A Prof. Dr. Marilde por disponibilizar o laboratório de bioquímica de alimentos para a realização de algumas análises;

Aos membros da banca que gentilmente aceitaram o convite;

As amigas do CAL, Márcia, Isabele, Jimena, Ana Paula, Michele, Eliana, Leila, Cony, amigas com quem vivi momentos de alegrias e tristezas, mas que a cada obstáculo mostraram o quanto é importante o valor da amizade;

Aos funcionários e professores do CAL, Sergio, César, Pedro, Beirão, Carlão e Bento por sempre me incentivarem e pela amizade;

As pessoas que levarei sempre no coração, minhas AMIGAS, Patrícia, Morgana, Amélia, Leide, Lorena, Gláucia e Vanessa que aturaram meu nervosismo, a minha impaciência dia após dia, e que mesmo assim permitiram amadurecer a amizade, obrigada pelo carinho e pela compreensão;

Ao meu amigo e primo Marcio, que por diversas vezes se disponibilizou, prestando ajuda ao que fosse necessário, e que muito tem me ensinado com as suas palavras.

A duas pessoas na qual seria impossível medir a intensidade do quanto sou grata e de tudo que fizeram para que eu alcançasse a realização deste sonho, não tenho palavras apenas muito amor e gratidão, meus adorados e maravilhosos pais LUIZ E IVONE...OBRIGADA ANJOS DA MINHA VIDA!!!

À todas as pessoas, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, que acreditaram em mim ou até descreditaram, o meu MUITO OBRIGADO!!

**“Quaisquer que sejam as suas lutas e
aspirações no ruidoso tumulto da vida,
mantenha PAZ em sua alma”.**

(MAX EHRMANN)

FREITAS, G. L. **Potencial antioxidante e compostos fenólicos na cerveja, chopp, cevada (*Hordeum vulgare* L.) e no bagaço de brassagem.** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC.

RESUMO

O consumo moderado e constante de alguns compostos naturalmente presentes nos alimentos pode ser responsável por diversos efeitos favoráveis a saúde. Importantes pesquisas são realizadas visando avaliar a possível contribuição que os antioxidantes presentes na dieta podem ter na prevenção de diversas doenças. A composição da cerveja, se destaca pela presença de vitaminas, proteínas e compostos fenólicos, provenientes geralmente da sua matéria-prima. Este estudo teve como objetivo investigar o potencial antioxidante e compostos fenólicos de cervejas distintas, bem como analisar sua principal matéria-prima, cevada, e o subproduto gerado, bagaço de brassagem na sua forma úmida e seca. Tanto para as cervejas como para a cevada e o bagaço foram realizadas as análises para determinação da atividade antioxidante, através dos métodos químicos: ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin 6-sulfônico) e o DPPH (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo), e para os compostos fenólicos totais o método de Folin-Ciocalteu e para determinar os flavanóis o método DMACA. Com o intuito de determinar se o bagaço de brassagem, denominado também como resíduo do processamento, pode ser reaproveitado realizou-se o estudo da sua composição centesimal. A cevada e o bagaço de brassagem foram analisados após obtenção de extratos com três diferentes solventes (acetona, água e etanol), pelo método de extração seqüencial e também por extração direta com acetona, em diferentes concentrações. O solvente extrator de maior desempenho foi a acetona 70%, medida através do método ABTS. Na cerveja, os compostos fenólicos podem variar de 249,73 a 808,58 mg GAE/L, em ordem crescente a cerveja escura de trigo, apresenta os maiores valores de polifenóis totais, seguida das cervejas escura de cevada, das cervejas clara de trigo e das cervejas clara de cevada. Apresentando valores de atividade antioxidante equivalente ao Trolox, TEAC (método ABTS), que variaram de 1048,62 a 3957,97 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ e pelo método DPPH, de 1051,98 a 3015,29 $\mu\text{Mol TEAC/L}$. Enquanto que no chopp de cevada, o conteúdo de compostos fenólicos pode variar de 314,3-360,7 mg GAE/L, e atividade antioxidante (método ABTS) média de 2113,02 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ (lote 3). Na cevada o conteúdo médio de polifenóis totais foi 292 mg (GAE)/100g, e de atividade antioxidante 1779,75 $\mu\text{Mol TEAC/100g}$. Considerável conteúdo total de compostos fenólicos permanecem no bagaço, em média 114,81 mg GAE/100g de amostra no bagaço úmido e 180,58 mg GAE/100g de amostra no bagaço seco, ambos obtidos pela extração seqüencial, e a atividade antioxidante no bagaço úmido varia de 98,92 a 427,99 $\mu\text{Mol TEAC/100g}$ e de 167,26 a 680,81 $\mu\text{Mol TEAC/100g}$ de bagaço seco. Os resultados obtidos demonstraram que existe correlação entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos, na cerveja e no chopp, assim como na cevada e no bagaço de brassagem. As cervejas analisadas podem ser fonte de compostos fenólicos aos quais se atribui a atividade antioxidante.

Palavras-chave: cervejas, cevada, bagaço de brassagem, atividade antioxidante, compostos fenólicos.

FREITAS, G. L. **Potencial antioxidante e compostos fenólicos na cerveja, chopp, cevada (*Hordeum vulgare* L.) e no bagaço de brassagem.** 2006. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC.

ABSTRACT

A moderate and constant consumption of some naturally present compounds in foods can be responsible for some favorable effects to the health. Nowadays, there are many researches aiming to evaluate the possible contributions that antioxidants originating from diet could have on the prevention of diverse diseases. Compounds that are prominent in beer composition are vitamins, proteins and phenolic compounds, usually proceeding from its raw material. The objective of this study was to investigate the antioxidant potential and phenolic compounds from different types of beers, as well as analyse its principal raw material, barley, and the subproduct generated, brassage pomace in its humid and dried form. As much in the beers as in the barley, analyses for the determination of antioxidant activity were determined using both methods: ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulphonic acid) and DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil); for the total phenolic content, the Folin-Ciocalteu's method; for the determination of flavanols, the flavanols, the DMACA method. With the intention of determining if the brassage pomace, also called processing residue, could be reused, the centesimal composition analysis was carried out. The barley and bagasse pomace were analysed after attainment of their extracts using three different solvents: acetone, water and ethanol, using the sequential extraction method and also through direct extraction with acetone in different concentrations. The extraction solvent with better performance, acetone 70%, was obtained with the ABTS method. In the beers, the phenolic compounds varied from 249,73 to 808,58 mg GAE/L, in crescent order the dark wheat beer presented the highest polyphenolic values, followed by dark barley beer, clear wheat beer and clear barley beer, presenting trolox equivalent antioxidant activities, TEAC (ABTS method), which varied from 1048,62 to 3957,97 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ and with the DPPH method, from 1051,98 to 3015,29 $\mu\text{Mol TEAC/L}$. While in barley fresh beer, the total phenolic content varied from 314,3-360,7 mg GAE/L, and antioxidant activity (ABTS method) means varied from 2113,02 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ (allotment 3). In the barley, the total phenolic content mean was 292 mg (GAE)/100g, and antioxidant activity was 1779,75 $\mu\text{Mol TEAC/100g}$. A high total phenolic content could be observed in the pomace, which mean was 114,81 mg GAE/100g in the humid pomace and 180,58 mg GAE/100g in the dried pomace, both obtained by the sequential extraction, and the antioxidant activity of the humid pomace varied from 98,92 to 427,99 $\mu\text{Mol TEAC/100g}$ and from 167,26 to 680,81 $\mu\text{Mol TEAC/100g}$ in the dried pomace. The results obtained show that there is correlation between the antioxidant activity and phenolic compounds in beer and fresh beer, as well as in the barley and brassage pomace. The beers analysed could be a potential source of phenolic compounds to which the total antioxidant activity is attributed.

Keywords: beers, barley, brassage pomace, antioxidant activity, phenolic compounds.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
CAPÍTULO 1.....	16
1. Revisão Bibliográfica.....	17
1.1. Radicais livres.....	17
1.2. Antioxidante.....	19
1.3. Oxidação lipídica.....	20
1.4. Polifenóis.....	21
1.5. Alimentos que atuam como antioxidante.....	24
1.6. Cerveja, cevada, bagaço brassagem.....	26
1.6.1. Cerveja.....	26
1.6.1.1. Processamento da cerveja.....	27
1.6.1.2. Tipos de cervejas.....	30
1.6.1.3. Compostos fenólicos da cerveja.....	31
1.6.2. Cevada.....	32
1.6.3. Bagaço de Brassagem.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
CAPÍTULO 2. Atividade antioxidante e determinação de polifenóis da cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) e do chopp.....	42
CAPÍTULO 3. Capacidade antioxidante e composição do resíduo (bagaço de brassagem) da produção de chopp em microcervejaria.....	57
CAPÍTULO 4. Avaliação antioxidante de cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH.....	72
CONCLUSÕES.....	87

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Algumas fontes de EROs e mecanismos de defesa	18
Figura 2. Quadro da rota clássica de autoxidação	21
Figura 3. Estrutura química do núcleo flavilium	22
Figura 4. Cevada, bagaço de brassagem e cerveja	28
Figura 5. Fluxograma do processo de produção da cerveja	30

CAPÍTULO 2

Figura 1. Representação gráfica da atividade antioxidante (TEAC), pelo método ABTS dos extratos de cevada obtidos por extração seqüencial.	48
Figura 2. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos de cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) e do chopp, com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.	50
Figura 3. Índice de polifenóis totais dos extratos obtidos da cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) com diferentes concentrações de acetona dos extratos de cevada obtidos por extração direta.	52
Figura 4. Atividade antioxidante determinada pelo método ABTS dos extratos obtidos da cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) com diferentes concentrações de acetona dos extratos de cevada obtidos por extração direta.	52
Figura 5. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos obtidos da cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) em diferentes concentrações de acetona (30, 50, 70 e 100%) com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.	53
Figura 6. Atividade antioxidante (DPPH) de extratos de cevada (<i>Hordeum vulgare</i> L.) com acetona em diferentes concentrações nos tempos 30 e 60 minutos, obtidos por extração direta.	54

CAPÍTULO 3

Figura 1. Representação gráfica dos compostos fenólicos totais obtidos por extração seqüencial do bagaço de brassagem seco dos lotes 1, 2 e 3.	65
Figura 2. Polifenóis e atividade antioxidante (ABTS), no tempo de 1 minuto, dos extratos úmido e seco do bagaço de brassagem obtidos com extração seqüencial.	67
Figura 3. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos obtidos de bagaço de brassagem (úmido e seco) pela extração seqüencial e atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.	67

Figura 4. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos obtidos do bagaço de brassagem úmido (BGU) e seco (BGS) com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS. 69

CAPÍTULO 4

Figura 1. Atividade antioxidante determinada pelo método ABTS de cervejas nos tempos 1, 4 e 7 minutos. 80

Figura 2. Correlação entre o índice de polifenóis totais com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS das cervejas. 80

Figura 3. Atividade antioxidante determinada pelo método DPPH de cervejas, nos tempos 30 e 60 minutos. 82

Figura 4. Correlação entre o índice de polifenóis totais com atividade antioxidante determinada pelo método DPPH das cervejas. 83

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1.** Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) determinada pelo método ABTS. 49
- Tabela 2.** Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de chopp determinadas pelo método ABTS. 49
- Tabela 3.** Índice de polifenóis totais (IPT), flavanóis e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) de extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) com acetona em diferentes concentrações. 51

CAPÍTULO 3

- Tabela 1.** Composição centesimal do bagaço úmido de cevada. 63
- Tabela 2.** Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de extratos obtidos do bagaço úmido determinado pelo método ABTS. 64
- Tabela 3.** Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de extratos obtidos do bagaço seco determinado pelo método ABTS. 66
- Tabela 4.** Índice de polifenóis totais (IPT), flavanóis e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) de extratos obtidos do bagaço seco e úmido com acetona a distintas concentrações. 68

CAPÍTULO 4

- Tabela 1.** Índice de polifenóis totais (IPT) e atividade antioxidante (ABTS) de diversos tipos de cervejas. 78
- Tabela 2.** Flavanóis e atividade antioxidante (DPPH) de extratos obtidos de cervejas. 81

INTRODUÇÃO

Constantemente os organismos vivos estão sujeitos à ação oxidativa do oxigênio, diversos estudos têm demonstrado que substâncias antioxidantes presentes na dieta diária pode produzir uma ação protetora efetiva contra estes processos oxidativos no organismo, removendo ou prevenindo a formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Uma gama de doenças entre as quais câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas extremamente reativas de oxigênio denominadas de *espécies reativas de oxigênio* ou ERO_s (ANGELIS, 1999).

Substâncias antioxidantes presentes nos alimentos de origem vegetal, como compostos fenólicos, estão relacionadas à capacidade antioxidante dos mesmos. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de seqüestrar os radicais livres (DECKER, 1997).

Considerando que o estresse oxidativo nos humanos é conseqüência de um desequilíbrio antioxidante (espécies reativas de oxigênio contra as defesas e mecanismos de reparação), se destaca a importância de encontrar um equilíbrio. Além das defesas endógenas como as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase estarem envolvidas no processo antioxidante, estão as defesas exógenas, que podem ser controladas e dosadas na medida das necessidades humanas. O consumo de antioxidantes exógenos, é muito importante, já que alguns como por exemplo, a vitamina E e o β -caroteno somente são sintetizados pelas plantas e encontrados nos alimentos (vitamina C, selênio e os compostos polifenólicos) (KUSKOSKI, 2003).

A cerveja é uma das bebidas de baixa graduação alcoólica, em torno de 4 a 8%, rica em nutrientes e outros componentes, incluindo carboidratos, aminoácidos, minerais, vitaminas e compostos fenólicos. Além do mais, o seu consumo moderado favorece uma maior massa óssea devido a grande quantidade de flavonóides e silício na sua composição (MARTINEZ, 2004).

O Brasil apresenta hoje mais de 60 cervejarias de médio e grande porte, que adotam a mais moderna tecnologia cervejeira para fabricar suas cervejas. A produção brasileira de cerveja soma aproximadamente 9 bilhões de litros anuais (2005), o consumo total de cerveja apresentou crescimento de aproximadamente 6,5%, colocando o Brasil em 4º lugar em nível mundial, atrás apenas da China (27

bilhões de litros/ano), Estados Unidos (23,6 bilhões de litros/ano) e Alemanha (10,5 bilhões de litros/ano). O potencial de consumo brasileiro evolui à medida que aumenta a população da faixa etária (18 a 59 anos) que começa a consumir cerveja e também devido ao aumento do poder aquisitivo. Quanto ao consumo *per capita*, no entanto, o Brasil apresenta-se com uma média de 47,6 litros/ano por habitante (SINDICERV, 2005).

A cevada, além de ser um dos cereais mais utilizados na produção da cerveja, é um cereal que apresenta ainda na forma de grão, 95% da energia do milho. Como subproduto da cervejaria, sendo também chamado de resíduo de cervejaria, utilizada na alimentação animal, ela é classificada como suplemento protéico, sendo comparada ao farelo de soja em valor nutricional. (FARIA, 2003).

O resíduo de cervejaria úmido (bagaço de brassagem), resultante do processamento da indústria cervejeira, é hoje produzido em larga escala no Brasil, principalmente na Região Sudeste. Para cada 100 kg de malte utilizado na fabricação de cerveja são gerados entre 118 e 130 kg de bagaço com 79% de umidade. Uma das vantagens do uso do bagaço de brassagem na alimentação animal consiste em diminuir o depósito de resíduos das indústrias e reduzir a quantidade de concentrados que devem ser adicionados à dieta (CLARK, MURPHY e CROOKER, 1987).

Tendo em vista, a importância em determinar os produtos que possam ser classificados como fonte de compostos antioxidantes obtidos nas dietas alimentares, este trabalho tem por objetivo avaliar o conteúdo de compostos fenólicos na cerveja, chopp e na cevada e no subproduto do processamento resíduo de cervejaria ou bagaço de brassagem. Determinar a atividade antioxidante aplicando os métodos ABTS e DPPH, e correlacionar aos valores de fenólicos totais.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Radicais livres

O oxigênio está associado a condições de vida aeróbia e como molécula que mantém o metabolismo e viabilidade celular. Também é responsável pela degradação química de inúmeras macromoléculas existentes no sistema biológico, e pela produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's). De todo o oxigênio disponível para célula, 95% se transforma em energia e 5% se transforma em espécies reativas tóxicas de oxigênio (DAVIES, 1994).

As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres (ITO e HIROSE, 1989; FRÉMONT, 2000). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais (LO, CHEUNG e PETER, 2005).

Os radicais livres são formados durante processos fisiológicos comuns, podendo as ERO's serem produzidas no citoplasma, nas mitocôndrias durante o processo respiratório ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA). (ANDERSON, 1996; YU E ANDERSON, 1997).

As espécies reativas do oxigênio (ERO's) formam as espécies radicalares cujo elétron desemparelhado está localizado no átomo de oxigênio. São exemplos de ERO's o anion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), o radical hidroxila (OH^{\bullet}) e o radical peroxila (RO_2^{\bullet}) (SIES, 1991; KARAKAYA, EL e TAS, 2001; BERGER, 2005)

Em organismos aeróbios saudáveis o balanço entre a formação de ERO's com a produção de antioxidantes, deve estar em equilíbrio. Quando a geração de ERO's sobrepassa as barreiras de defesa do organismo, se inicia a produção de um grande número de danos oxidativos nas estruturas biológicas de macromoléculas tais como DNA, carboidratos, proteínas e lipídios. (ERENEL, ERBAS, ARICIOGLU, 1993; HALLIWELL et al., 1995 (a); GONZÁLEZ SAN JOSÉ, MUNIZ e VALL BELLÉS, 2001). O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes, com balanço maior para as oxidantes, resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres, e é nomeado de estresse oxidativo (SIES, 1993).

O estresse oxidativo está relacionado com doenças como câncer, esclerose múltipla, mal de Parkinson, doença auto-imune, isquemia, anemia e demência senil (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990; RICE-EVANS et al., 1997).

A base do desenvolvimento de muitas doenças crônicas pode estar relacionada à quantidade de radicais livre presentes no organismo e aos produtos subseqüentes formados nas reações iniciadas por eles. Alterações nas membranas celulares podem levar a transtornos de permeabilidade, alterando o fluxo iônico e de substâncias, provocando a perda da seletividade para a entrada ou saída de nutrientes e substancias tóxicas a células, alteração do DNA, oxidação LDL e comprometimento dos componentes da matriz extracelular (proteoglicanos, colágeno e elastina) (TOMAS, 2000; CURI et al.,2002; TEPE et al.,2005).

Os radicais livres podem ser produzidos através de fontes endógenas e exógenas e esses são metabolizados no organismo pelo sistema de antioxidantes enzimáticos (por ação das enzimas superóxido dismutase (SOD), glutational peroxidase (GPx) e catalase) ou, também, podem ser neutralizados através de substâncias antioxidantes não enzimáticas (como tocoferóis, ácido ascórbico e carotenos) **Figura 1.** (DIPLOCH,1991; BERGER,2005; MATHEW e ABRAHAM, 2005).

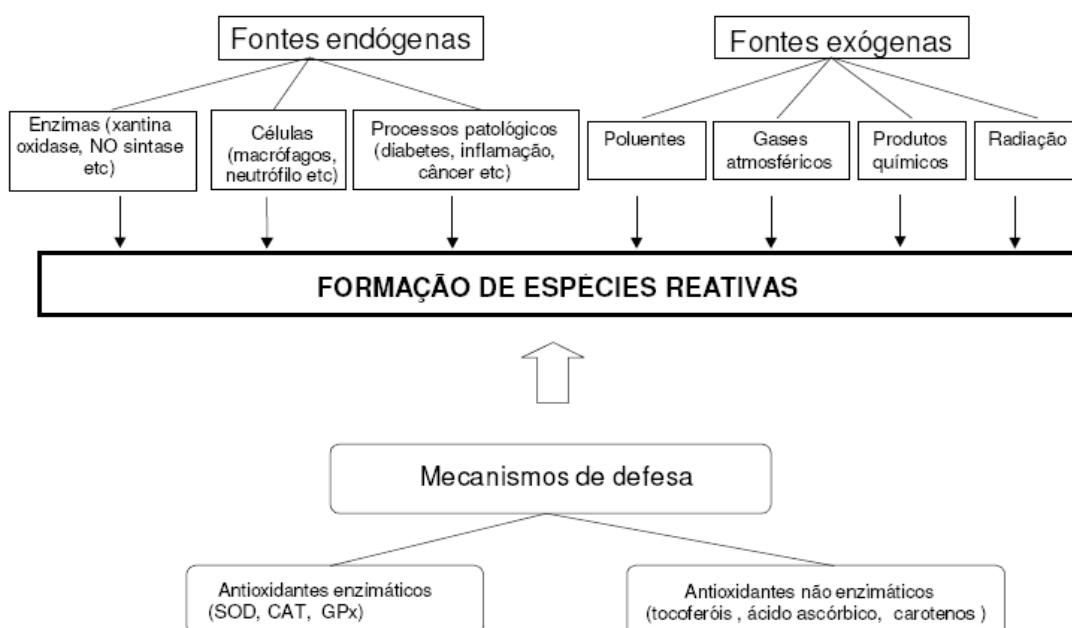


Figura 1. Algumas fontes de EROs e mecanismos de defesa. (BIOQUÍMICA, 2005).

Antioxidantes dietéticos, de fontes exógenas, podem ser efetivos na limitação do processo oxidativo em sistemas tanto *in vitro* como *in vivo*. Atribui-se como fonte de antioxidantes exógenos, diversos vegetais, frutas e verduras, bebidas, ervas e especiarias (SCHULER, 1990).

1.2 Antioxidante

Uma substância é considerada antioxidante quando presente em baixa concentração, comparada à do substrato oxidável, diminui ou inibe significativamente a oxidação daquele substrato (RICE-EVANS et al., 1997; HALLIWELL, 2002).

Antioxidantes também podem ser definidos como compostos, naturais ou sintéticos, que apresentam elevada estabilidade oxidativa e que têm propriedade de prevenir a oxidação de outras substâncias como proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos (MOREIRA e MANCINI-FILHO, 2003).

Portanto os antioxidantes são geralmente classificados como “inibidores da peroxidação lipídica e conseqüentemente da deterioração de alimentos”. Em contraste, no trato-gastrointestinal humano, bem como nos tecidos corporais o dano gerado pelo desequilíbrio entre antioxidantes e radicais livres, as proteínas e a moléculas de DNA é tão importante quanto a oxidação lipídica, sendo que a lesão desta molécula pode ser considerada um dos maiores riscos para o desenvolvimento de doenças como câncer e infarto do miocárdio (HALLIWELL, 2002).

Os antioxidantes podem apresentar uma característica primária, onde atuam como doadores de prótons, impedindo o processo de iniciação desencadeado pelos radicais livres. Nesta classe de antioxidantes são encontrados os compostos fenólicos, aminoácidos, tocoferol e carotenóides. (SIMIC e JAVANOVIC, 1994; WEIBURGER, 2001; STEINBERG, BEARDEN e KEEN, 2003).

Os antioxidantes secundários atuam no bloqueio da decomposição dos peróxidos e hidroperóxidos, convertendo-os na forma inativa por ação de agentes redutores, bloqueando a reação em cadeia através da captação de intermediários reativos como os radicais peroxila e alcoxila. Entre eles são também caracterizados os antioxidantes sintéticos, as vitaminas A e E, e os compostos fenólicos (DONNELLI e ROBINSON, 1995).

Entre os antioxidantes presentes nas frutas, vegetais e cereais, os mais ativos e freqüentemente encontrados são os compostos fenólicos, principalmente a classe dos flavonóides. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade seqüestradora de espécies radicais, principalmente às hidroxilas vicinais ligadas ao anel aromático (DECKER, 1997; GALATO et al., 1999).

Além das propriedades seqüestradoras de radicais, os compostos fenólicos podem ainda quelar metais de transição, impedindo que estes participem de reações redoxes e conseqüentemente prevenindo eventos oxidativos (JACOB e BURRY, 1996; FRÉMONT, 2000).

Os compostos fenólicos mais estudados são: o ácido caféico, o ácido gálico e o ácido elágico. Esses compostos de considerável importância na dieta podem inibir o processo de peroxidação lipídica, conseqüentemente, podem agir como agentes anticarcinogênicos e cardioprotetores (HALLIWELL et al., 1995 (b); NARDINI e GHISELLI, 2004; BAMFORTH, 2002).

1.3 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica, sendo um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor comercial seja dos compostos graxos, seja de todos os produtos que a partir deles são formulados (SILVA, BORGES e FERREIRA, 1999) conduz à mudanças que ocorrem durante o processamento, distribuição e preparação final dos alimentos. A oxidação de lípidos inicia também outras mudanças nos alimentos que afetam sua qualidade nutricional, segurança, cor, flavor e textura (SHAHIDI, JANITHA e WANASUNDARA, 1992). Este aspecto é de grande importância, não somente sob o enfoque econômico, através de perdas devido à diminuição da vida-de-prateleira, mas também pela possibilidade dos radicais livres formados reagirem ou interagirem com outros constituintes dos alimentos provocando uma queda na qualidade nutricional dos mesmos (NAWAR, 1996).

A autooxidação de lípidos polinsaturados de alimentos envolve uma reação em cadeia de radicais livres, que é freqüentemente iniciada pela exposição dos lípidos à luz, calor, radiação ionizante, íons metálicos ou catálise metalo-protéica. A enzima lipoxigenase pode também iniciar a oxidação. A rota clássica de autooxidação inclui reações de iniciação (produção de radicais livres dos lípidos), propagação e

terminação (produção de produtos não radiculares), Reações 1-4 (**Figura 2**), (SHAHIDI, JANITHA e WANASUNDARA, 1992).

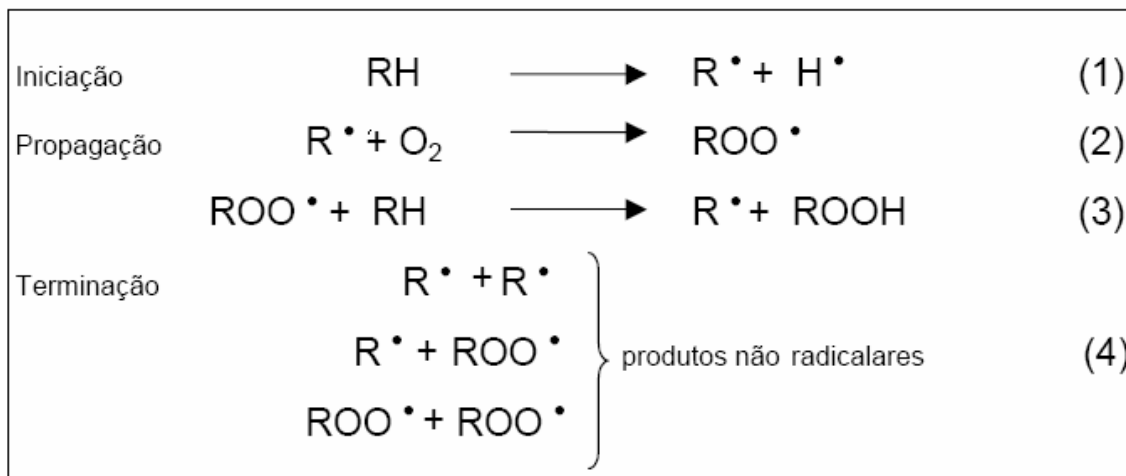


Figura 2. Quadro da rota clássica de autoxidação (SHAHIDI, JANITHA e WANASUNDARA, 1992).

1.4 Polifenóis

Os polifenóis estão entre os compostos naturais mais disseminados em plantas registrando-se mais de 8000 estruturas diferentes (KUSKOSKI et al., 2005). Classificados como um grupo de substâncias fenólicas de baixo peso molecular formadas pela combinação de substâncias derivadas da fenilalanina e do ácido acético, via biossintéticas do shiquimato e do acetato, respectivamente. Apresentam-se freqüentemente oxigenados e podem ser encontrados tanto em estado livre (aglicona ou genina) como na forma de glicosídeos, também chamados heterosídeos (ligados a açúcares). Ocorrem quase que exclusivamente em plantas superiores, embora existam também, relatos de sua presença em algumas algas e fungos; sendo nessas responsáveis pela coloração das flores e dos frutos (ZUANAZZI e MONTANHA, 2003).

Embora se possa encontrar flavonóides em diversas formas estruturais, sua estrutura é baseada num núcleo flavilium (**Figura 3**).

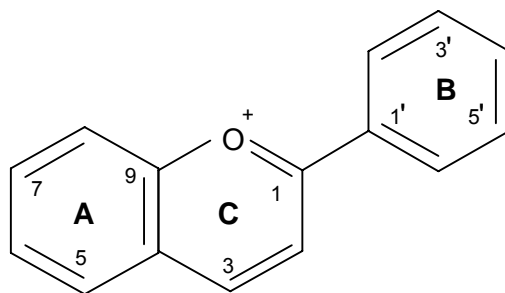


Figura 3. Estrutura química do núcleo flavilium (KUSKOSKI, 2003).

Nos compostos tricíclicos, as unidades são chamadas núcleos A, B e C e os átomos de carbono recebem a numeração com números ordinários para os núcleos A e C, e os mesmos números seguidos de uma linha (') para o núcleo B. Esta estrutura tem como núcleo fundamental um esqueleto de carbono C6–C3–C6 (15 átomos de carbono), constituído de grupos fenílicos ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas (ZUANAZZI e MONTANHA, 2003).

Quanto a aspectos físico-químicos, os flavonóides são geralmente solúveis em água. Podem ser extraídos com álcool etílico 70% e ficam na fase aquosa, se este extrato for seguido de uma separação líquido-líquido com éter de petróleo. Flavonóides contém sistemas aromáticos conjugados e por isso, mostram intensa banda de absorção em regiões do espectro visível e do ultravioleta (UV) (HARBORNE e WILLIAMS, 2000).

A estrutura química dos compostos fenólicos é que confere sua capacidade de atuar como captadores de radicais livre. O tipo de composto, o grau de metoxilação e o número de hidroxilas são alguns dos parâmetros que determinam esta atividade antioxidante.

Assim, segundo RICE-EVANS et al. (1995) os compostos com maior atividade antioxidante são os de estrutura flavonóides. Precisamente os flavonóides majoritários nas cervejas, são os que apresentam:

- dois grupos hidroxilas na posição orto do anel B, o que confere uma alta estabilidade ao radical que se forma depois da reação de captura do radical livre.
- uma dupla ligação entre o carbono 2 e 3 em conjugação com carbonila (C=O) em posição 4 no anel C.
- grupos OH no carbono 3 e 5 e grupo carbonila (C=O) na posição 4 dos anéis A e C.

Os flavonóides são responsáveis, nas plantas, por diversas funções, tais como proteção contra doenças causadas por microrganismos, proteção contra a incidência de raios UV/Vis, podem também servir como fator dissuasivo contra insetos e animais herbívoros. Entretanto, como alguns produzem cor, podem ao mesmo tempo funcionar como atrativos de animais, com finalidade de polinização. Alguns representantes dessa classe podem reagir com enzimas, inibindo-as, e como consequência, interferir em processos biológicos da planta. Além disso, podem também agir como antioxidantes, no controle da ação de hormônios vegetais e como agentes alelopáticos (HARBONE, 1994; HARBORNE e WILLIAMS, 2000; ZUANAZZI e MONTANHA, 2003).

Os compostos fenólicos conferem propriedades antioxidantes tanto para alimentos, como para o organismo, sendo indicados na prevenção de alguns quadros patológicos, que envolvem a participação dos radicais livres, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, entre outras doenças. Atuam como agentes redutores, seqüestradores de radicais livres, inibidores da lipoxigenase e algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI, JANITHA e WANASUNDARA, 1992; PALLI, 2004).

As principais fontes de polifenóis são: frutas e bebidas (sucos de frutas, vinho, chá, café, chocolate e cerveja) verduras, legumes e cereais. Os flavonóides formam o maior grupo dos polifenóis, um grupo que pode ser representado principalmente pelas antocianinas e antoxantinas. As antocianinas são pigmentos azuis, vermelho a violeta, e estão presentes em flores e em frutas. As antoxantinas que incluem os flavonóis, flavanóis, flavonas e isoflavonas (DENKE, 2000; WEINREB et al, 2004; KUSKOSKI et al., 2005).

Uma dieta ideal rica em polifenóis seria em torno de 1g/dia. Entretanto, estudos de biodisponibilidade indicam que os níveis encontrados no plasma não refletem essas quantidades. Tem-se observado que existe uma grande variedade na biodisponibilidade observada tanto entre polifenóis como entre indivíduos (SCALBERT e WILLIAMSON, 2000). Em geral, a biodisponibilidade está em função da solubilidade (HOLLMAN et al, 1998; EASTWOOD, 1999) e os polifenóis apresentam diferentes níveis de absorção nos meios biológicos (BOURNE et al, 2000).

A biodisponibilidade difere extremamente de um polifenol a outro, de modo que os polifenóis que são os mais abundantes em nossa dieta não são

necessariamente aqueles que conduzem às concentrações mais elevadas de metabólitos ativos nos tecidos alvo (ZUANAZZI e MONTANHA, 2003; DEL CARLO et al, 2004; MANACH et al., 2005). O consumo de alimentos ricos em polifenóis pode estar associado com a diminuição do risco de câncer, derrames e doenças coronárias (PAPADOPOULOU e FRAZIER, 2004).

Polifenóis tem afinidade de ligação com proteínas. A capacidade antioxidante de polifenóis pode ser modificada pela presença de proteínas (ARTS et al, 2002). A ligação das proteínas dos alimentos pode ter implicações em termos de biodisponibilidade (WOLLGAST e ANKLAM, 2000). Entretanto proteínas presentes em uma matrix alimentar, no processo digestivo e no sangue podem exercer influência na atividade biológica dos polifenóis (PAPADOPOULOU e FRAZIER, 2004).

Uma das propriedades mais conhecidas dos compostos fenólicos é sua capacidade de unir-se e precipitar as proteínas da dieta, endógenas e de enzimas, as quais podem formar complexos solúveis e insolúveis. Os complexos insolúveis polifenol-proteínas passam sem alteração pelo trato gastrointestinal, sendo excretado pelas fezes, e portando reduzindo a digestibilidade das proteínas (CHARLTON, et al., 2002)

1.5 Alimentos que atuam como antioxidante

No organismo existe um equilíbrio entre oxidantes/antioxidantes, quando este equilíbrio se rompe a favor dos oxidantes se produz o estresse oxidativo que está implicado em muitos processos patológicos. Portanto, é de vital importância o consumo de alimentos que contenham antioxidantes naturais para manter o equilíbrio oxidante/antioxidante. (CAO et al., 1998; YOUNG et al, 1999; KUSKOSKI et al., 2005).

Alguns estudos visam avaliar a possível contribuição que os antioxidantes presentes na dieta podem ter na prevenção de doenças, no entanto é importante ressaltar que para um composto ter capacidade antioxidante, depende da concentração e absorção (ANGELIS, 1999).

Os ingredientes benéficos dos alimentos são denominados de componentes funcionais e de componentes bioativos. Tais ingredientes exercem ações antioxidantes, ativando enzimas hepáticas contra intoxicações, bloqueando toxinas

bacterianas ou virais, inibindo a absorção de colesterol, diminuindo a agregação de plaquetas ou inibindo bactérias gastrintestinais indesejáveis. Componentes bioativos incluem grande número de compostos químicos com estruturas variadas, dentre os quais carotenóides, flavonóides, esteróis, ácidos graxos poliinsaturados e ácidos fenólicos (PENNINGTON, 2002).

O consumo de vegetais tem sido associado a uma dieta saudável. Além do seu potencial nutritivo, estes alimentos contêm diferentes fitoquímicos, muitos dos quais desempenham funções biológicas, com destaque para aqueles com ação antioxidante. Estudos têm demonstrado que além de β -caroteno, vitamina C e vitamina E, os compostos fenólicos também estão relacionados à capacidade antioxidante de vários vegetais (VELIOGLU et al., 1998; GARDNER et al., 2000; McDONALD et al., 2001).

Estudos têm demonstrado uma menor incidência de enfermidades cardiovasculares, câncer e outras patologias, nos países do sul da Europa, onde se consome uma dieta mediterrânea, frente aos países nórdicos. Este efeito é atribuído especialmente às vitaminas e compostos fenólicos. O consumo de frutas, verduras, azeite de oliva, e determinadas bebidas como cerveja, vinho e chá, apresentam uma relação inversa com as enfermidades cardiovasculares (GINGLIANO, 2000). Diversos trabalhos relatam que o consumo moderado de vinho e cerveja está associado com uma menor incidência destas enfermidades cardiovasculares. Do ponto de vista nutricional, as cervejas contêm mais proteínas e vitaminas do grupo B que o vinho. A atividade antioxidante da cerveja é similar a do vinho embora seus antioxidantes específicos presentes no lúpulo e na cevada sejam diferentes dos compostos antioxidantes presentes na uva (DENKE, 2000).

As cervejas contêm muitos componentes, entre eles, ácido fólico, vitaminas do complexo B (B1, B2, B12) e polifenóis que são os elementos antioxidantes naturais presentes em maior quantidade na cerveja e nas matérias primas utilizadas na elaboração da mesma. Certamente, os polifenóis da cerveja se originam da casca da cevada malteada e do lúpulo (GONZALEZ SAN JOSÉ, MUNIZ e VALL BELLÉS, 2001).

Nos cereais os compostos fenólicos podem ser encontrados na forma livre, solúvel conjugada e conjugados (YU, VASANTAHAN, TEMELLI, 2001), no endosperma, gérmen e frações de farelo. A maior parte destes compostos encontra-se na forma conjugada, esterificada aos polissacarídeos das paredes celulares

(ADOM e LIU, 2002). Os mais abundantes são os ácidos fenólicos entre eles, ácidos ferúlico, vanílico, *p*-cumárico, protocateico e caféico (ANDREASEN et al., 2001).

Presentes nos grãos e em seus produtos, os compostos fenólicos apresentam-se como excelente fonte doadora de elétrons, e possuem atividades antioxidantes associada com benefícios à saúde (SLAVIN, 2003). Além disso, o alto consumo de fenóis é correlacionado com a redução do risco de doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (DUTTHIE, DURTHIE e KYLE, 2000; TAPIERO et al,2002).

1.6 Cerveja , cevada, bagaço brassagem

1.6.1 – Cerveja

A palavra “beer” provém do latim “bibere” que quer dizer beber. Há 5000 anos, já existia a cerveja, conforme inscrições em ruínas da Mesopotâmia, do século 37 a.C. O livro dos Mortos, do Antigo Egito, traz menções sobre a cerveja fabricada com cevada. Também na China há registros de 4000 anos da “kiu”, cerveja feita à base de cevada, trigo, milho e arroz. Os imigrantes, colonos primitivos ingleses e holandeses, trouxeram a tecnologia doméstica da fabricação da cerveja para a América, preparando a mesma com milho e lúpulo.

No Brasil, em 1900, já estava estabelecida a indústria cervejeira com 27 cervejarias registradas (AQUARONE, LIMA e BORZANI, 1983; MATAIX, 2004).

As bebidas alcoólicas como a cerveja, o vinho e os licores, diferenciam-se na sua composição, na concentração de álcool etílico e em outra série de compostos como os açúcares, aminoácidos, minerais, polifenóis, vitaminas entre outros que lhes conferem distintos valores nutritivos. O vinho, por exemplo, uma bebida que esta fundamentalmente ligada à cultura mediterrânea e que faz parte da dieta, onde o consumo é moderado, regular e ou mesmo diário, durante as refeições, tal fato não ocorre, por exemplo, com os licores (LLERENA e HUERTA, 1998). No Brasil devido ao clima o consumo de cerveja é superior ao consumo de vinhos, até mesmo na região sul onde esta localizada a maior produção de vinhos.

Por ser uma das bebidas mais delicadas e lábeis, possuindo um complexo, mas moderado, aroma e sabor. O equilíbrio de seus compostos voláteis e não-voláteis é responsável pela aceitação e qualidade da bebida. A composição em

ésteres, aldeídos, dicetonas vicinais, ácidos orgânicos, álcoois superiores, fenóis, iso- α -ácidos e outros compostos estão diretamente relacionados com a qualidade. A perda de qualidade por sabores indesejáveis é um sério problema nas indústrias cervejeiras (ARAÚJO, SILVA e MINIM, 2003).

1.6.1.1 Processamento da cerveja

A cerveja é produzida da fermentação alcoólica do mosto de cereal malteado, geralmente malte de cevada, sendo facultativa a adição de outra matéria-prima amilácea ou de lúpulo, e em geral o teor alcoólico é baixo, de 3 a 8%. **Figura 4.** Sob esta designação podem se encontrar os mais diversos tipos de cerveja, obtidos por processos que vão da fabricação caseira a cerveja de processamento industrial (AQUARONE, LIMA e BORZANI, 1983; MARTINEZ, 2004).

As matérias-primas essenciais para a fabricação da cerveja são: água, malte, complementos de malte, levedura e lúpulo. Outros componentes podem ser utilizados, de acordo com o tipo, a tradição ou a preferência local (MATAIX, 2004; MARTINEZ, 2004).



Figura 4. Cevada, bagaço de brassagem e cerveja.

Malte é um termo técnico utilizado para definir a matéria-prima resultante da germinação de qualquer cereal sob condições controladas. Quando não há indicação, se subentende que é feito de cevada e em qualquer outro caso, é acrescentado o nome do cereal, por exemplo: malte de trigo, de centeio e de outros cereais (KUNZE, 1997).

O processo de fabricação do malte chama-se maltagem, que envolve o controle do umedecimento com água e posterior germinação sob condições controladas de temperatura com o intuito de obter mudanças físicas e químicas desejadas, com uma perda mínima de energia pelo processo de respiração (KALNIN, 1999).

Dentro da fábrica de cerveja, o processo inicia-se com a moagem do malte, mosturação, fervura, fermentação e maturação (**Figura 5**).

A mosturação consiste em misturar o malte moído, a água e os sucedâneos do malte, em dornas com controle de temperatura que iniciam o processo a baixas temperaturas e vão aquecendo por etapas até 75°C. O objetivo é gomificar o amido para facilitar a hidrólise deste por parte das enzimas do malte. Quando a massa estiver a 50°C, estarão agindo as proteases, a 60–65°C, ocorre a sacarificação pela β -amilase e a 70-75°C, a dextrinização do amido pela α -amilase. O ponto final da mosturação é a degradação do amido, que se hidrolisa a açúcares fermentescíveis como maltose, glicose e maltotrioses, além de formar dextrinas (KRAMER, 1999).

As operações de mosturação e de fervura são designadas de brassagem na cervejaria. Nesta fase há precipitação de proteínas, resinas e taninos. Durante a fermentação, ocorre a utilização do açúcar pelas leveduras e produção de CO₂ e álcool.

O acompanhamento da fermentação pode ser feito através da medida dos sólidos em solução, graus Brix. Dependendo da quantidade de sólidos no início, traduzidos pelos açúcares fermentescíveis, tem-se uma quantidade maior ou menor de álcool na fase final da fermentação.

Após a fermentação principal, a cerveja verde, que ainda possui uma suspensão de leveduras e uma parte de material fermentescível passa por uma fermentação secundária chamada maturação. Na verdade é um repouso prolongado a temperaturas baixas, de 0 a 3°C que contribui para a clarificação da cerveja e melhoria do sabor (AQUARONE, LIMA e BORZANI, 1983; MARTINEZ, 2004).

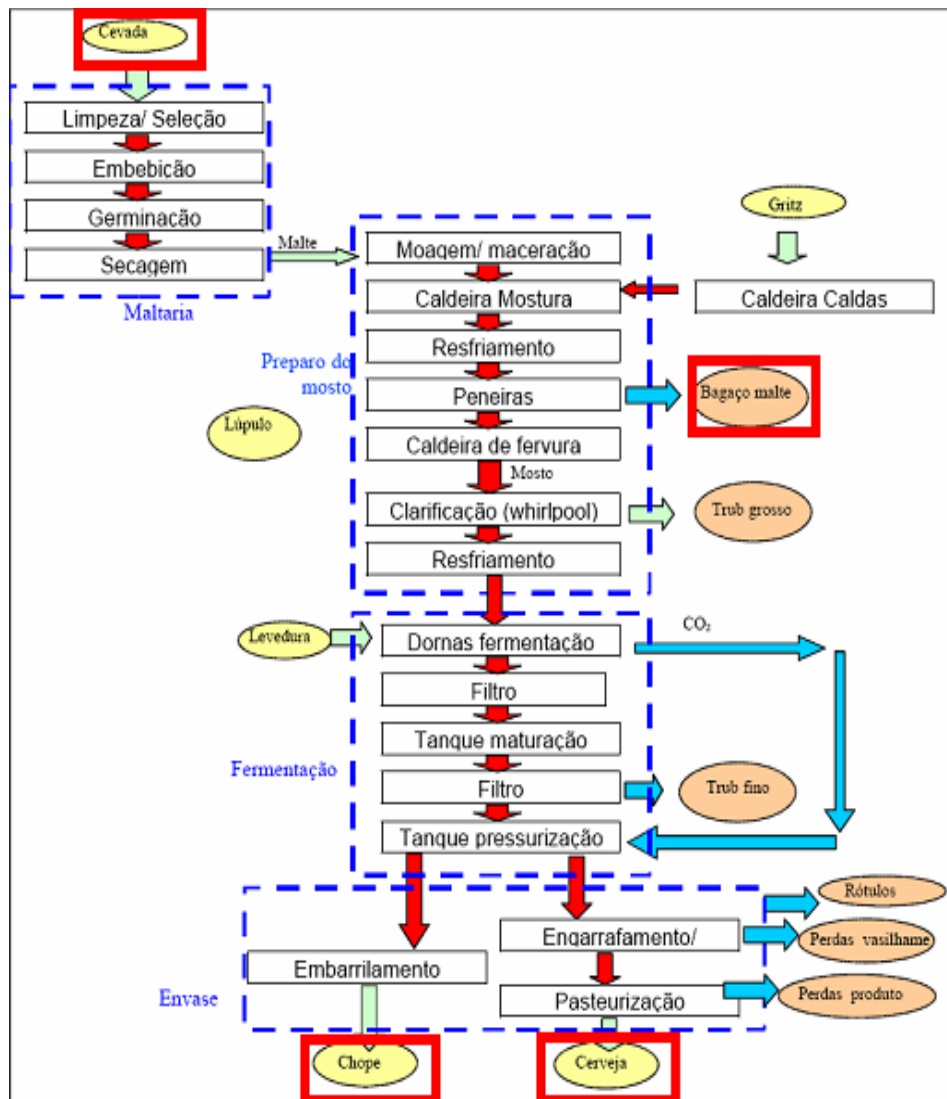


Figura 5. Fluxograma do processo de produção da cerveja (KRAMER, 2004)

1.6.1.2. Tipos de Cervejas

Cervejas são classificadas em de alta ("ale") e de baixa ("lager") fermentação, sendo os sabores e aromas das cervejas "lager" mais suaves e leves. Cervejas do tipo "lager" são fermentadas à temperatura de 3,3 a 13°C e a duração da fermentação e da maturação pode ser de 4 a 12 semanas. Devido às baixas temperaturas usadas no processo, os sabores e aromas das cervejas "lager" são mais suaves e leves em comparação com as "ales" (HARDWICK, 1995).

As cervejas do tipo "lager", que são elaboradas com cepas de *Saccharomyces calshbergensis*, são mais populares mundialmente e as do tipo "ale",

elaboradas com cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, são muito populares na Grã Bretanha (VARNAM e SUTHERLAND, 1997).

Embora nitidamente diferenciadas em tecnologia cervejeira, as classificações taxonômicas destas leveduras tendem a agrupá-las em apenas uma espécie, *Saccharomyces cerevisiae*. Como exemplos de cerveja tipo "lager" se pode citar a *Bock*, *Dortmunder*, *Munchner*, *Pilsener* e *Vienna (Marzen)* e de cerveja tipo "ale" tem-se a *Porter*, *Stout*, *Salsons*, *Alt*, *Light ale*, *Pale ale*, *Bitters* e *Barley wines* (ARAÚJO SILVA, e MINIM, 2003).

As cervejas de trigo são processadas com malte de trigo e são freqüentemente produzidas sem passar pelo processo de filtragem. Essas cervejas podem ter sabores de fruta e/ou especiarias, podendo variar de suave à leve. Sua cor pode variar de palha à cor escura. As cervejas tipo *Amber* possuem um alto teor de malte caramelizado, e os sabores provenientes de lúpulo podem variar de muito suaves a muito forte (ARAÚJO SILVA e MINIM, 2003).

1.6.1.3 Compostos fenólicos da cerveja

Os compostos polifenóis desempenham um papel importante nas características sensoriais (cor, aroma e sabor) e nutricionais da cerveja (GONZALEZ SAN JOSÉ, MUNIZ e VALL BELLÉS, 2001). Estes compostos são importantes para os cervejeiros, devido a sua influência na estabilidade coloidal da cerveja, sendo responsável pela turbidez originada pela interação com as proteínas da cerveja.

Os principais polifenóis presentes na cerveja provem essencialmente da casca de cevada malteada e do lúpulo. São ácidos fenólicos, flavonóides de três tipos: flavanóis (catequinas e epicatequinas), as antocianinas entre elas estão a pelargonidina, malvidina, leucocianidinas e leucopelargonidina e seus derivados produtos de oxidação (como as chalconas) e os flavonóis (quercitina, kampferol, mircetina). Também aparecem compostos mais complexos como os taninos sendo os mais importantes as proantocianidinas de diversos graus de polimerização. (GONZÁLEZ SAN JOSÉ, MUNIZ e VALL BELLÉS, 2001; CODONÉR, 2002; HEIM, TAGLIAFERRO e DENNIS, 2002).

Os antioxidantes naturais presentes nas cervejas, exercem, entre outras, uma função protetora de qualidade sensorial da cerveja, evitando deterioração oxidativa de sua qualidade (NOEL et al., 1999).

O conteúdo final de compostos fenólicos em uma cerveja não depende exclusivamente das matérias primas empregadas em sua elaboração, mas muitos fatores podem afetar este conteúdo final. Alguns dados publicados indicam que os polifenóis da cereja inibem a oxidação das LDL *in vitro* (MIRANDA et al., 2000). As calconas procedentes da cerveja apresentam atividade antioxidante, protegem a peroxidação lipídica induzida em ensaios com ratas (RODRÍGUEZ et al. 2001).

BOBAK e colaboradores (2000) analisaram os possíveis efeitos protetores do consumo moderado de cerveja, eliminando os fatores relacionados com os hábitos de consumo de álcool. Os mesmos concluíram que o efeito protetor da cerveja é similar ao do vinho, devido à redução da coagulação sangüínea e aumento do colesterol de lipoproteínas de alta densidade o HDL - e confirmaram os estudos prévios em que se assina o efeito cardioprotetor limitante a pessoas que bebem moderadamente.

Segundo SERRA (2002), cerveja é uma fonte importante de vitaminas do grupo B (folatos, riboflavina, etc.), minerais, fibra solúvel, antioxidantes naturais e outras substâncias. Numerosos estudos científicos, relatam que o seu consumo moderado em adultos saudáveis é perfeitamente compatível a uma dieta equilibrada. O consumo moderado equivale a 500 mL/dia (dado como valor máximo) para homens e 250 ml/dia para mulheres (MATAIX, 2004).

1.6.2 Cevada

A cevada (*Hordeum Vulgare* L.) representa o quarto cereal mais utilizado no mundo, logo após o trigo, arroz e milho. Sua utilização para fins não cervejeiros inclui ração animal, alimentação humana e aplicações industriais (BHATTY, 1993).

A cevada tem sido cultivada no Brasil, em pequena quantidade, desde a época colonial e, a partir de 1976, a produção deste grão foi incentivada pelo governo federal preocupado com a evasão de divisas causada pela importação deste produto e do malte (SANTOS, COUTO e ANDRADE, 2001).

O Brasil produziu, na última safra, 392.490t, comparado com 275.881t em 2003, com uma produtividade de 2.778 Kg/ha (IBGE, 2005).

Em relação ao consumo humano, têm-se observado recente interesse pelo uso deste cereal, por causa de suas propriedades dietéticas, associadas a benefícios com a saúde. A cevada é conhecida pelo seu alto conteúdo de fibra

alimentar solúvel (β -glucanas), a qual diminui o colesterol plasmático e índice glicêmico, além de reduzir o risco de câncer de cólon (ANDERSON, ANDERSON, ÂMAN 2000; SLAVIN, MARQUAT, JACOBS, 2000).

O grão de cevada apresenta a seguinte composição média, em termos de grão inteiro: as camadas celulósicas compreendem 16% do grão, dos quais 3% são aderentes ao mesmo. O endosperma amiláceo corresponde a 81% do grão e o germe a 3% do total. Retirando-se a casca, as estruturas do grão acham-se distribuídas da seguinte maneira: o endosperma formado pela camada de auleurona (4,8%) e endosperma amiláceo (76,2%). O germe, por sua vez, compreende o embrião (1,7%) e o escutelo (1,3%) (AQUARONE, LIMA e BORZANI, 1983).

A cevada pode ser classificada em nua ou vestida, em cevada nua uma variedade melhorada geneticamente para fins de alimentação humana, a casca é facilmente separada do grão durante a colheita, enquanto que a cevada vestida às cascas mantém-se firmemente aderidas. Geralmente cevada vestida é escolhida para fins cervejeiros, onde as cascas fazem parte essencial do processo de produção do mosto, casca insolúvel possibilita posteriormente, a formação de uma camada filtrante durante a clarificação, que é a separação do mosto das matérias sólidas (bagaço) (BHATTY, 1986; EHRHARDT e SASSEN, 1995).

1.6.3 Bagaço de Brassagem

Na produção da cerveja o resíduo sólido resultante da fase inicial do processo de fabricação de cervejas é retirado do mosto por meio de filtro prensa, e é denominado de bagaço de cevada. O produto é resultado do cozimento dos grãos de cevada para a produção do malte nas cervejarias. A este processo se denomina brassagem ou também mosturação (REINOLD, 2003).

O resíduo de cervejaria úmido (bagaço de brassagem), apresenta-se na forma de casca ou de farelo, com 80% umidade, rico em proteínas brutas (PB), em média de 25%, possui alto teor de fibras brutas (FB) em média de 20% e índice de nutrientes digestíveis totais (NDT) de 74% comparáveis a alimentos tradicionais como o farelo de trigo ou o milho desintegrado com palha e sabugo entre outros. Estima-se que a disponibilidade no Brasil, ultrapassa a 2.000.000 toneladas/ano (FARIA, 2003)

De acordo com LIMA (1993), a elevada porcentagem de umidade encontrada no resíduo de cervejaria úmido é o principal fator limitante à sua utilização, usado tradicionalmente para alimentação de gado bovino ou de forma experimental em outros tipos de criação tais como aves, suínos e peixes entre outros. O bagaço de cevada tem demonstrado um grande potencial de comercialização com a diminuição de resíduos sólidos, ocasionando um menor impacto ambiental e uma redução de custos com um conseqüente aumento nos lucros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxiant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.6182–6187, 2002.

ANDERSON, A. A. M.; ANDERSON, R.; AMAN, P. Air classification of barley flours. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 463-467, 2000.

ANDERSON, D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutation Research**. v.350, n.1, p.103-108, 1996.

ANDREASEN, A.F.; KROON, P.A.; WILLIAMSON, G. AND GARCIA-CONESA, M.-T. Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, p. 5679–5684, 2001.

ANGELIS, R.C. Guia global alimentar. In: De Angelis RC. **Fome oculta. Impacto para a população do Brasil**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999.

AQUARONE, E.; LIMA, U. .A.; BORZANI, W. **Biotechnologia: alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher. v.5, 1983, 243p.

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.

ARTS, M. H. G. W. LC.; BEETSTRA, S.; HEIJNEN, C.; VOSS, H.; BAST, A. Interactions between flavonoids and proteins: effect on the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.50, p.1184-1187, 2002.

BAMFORTH, C. W. Nutritional aspects of beer – Review. **Nutrition Research**. v. 22, p. 227-237, 2002.

BATTY, R. S. The potential of hull-less barley - A Review. **Cereal Chemistry**, v. 63 n.2, p. 97-103, 1986.

BATTY, R. S. Non malting uses of barley. In: **Barley: chemistry and technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemistry. 1993, p. 355-417.

BERGER, M.M. Can oxidative damage be treated nutritionally. **American Journal Clinical Nutrition**. v.24, p.172-183, 2005.

BIOQUÍMICA. Departamento de bioquímica. Instituto de Química. Universidade de São Paulo. SP. 149p. 2005.

BOBAK, M.; SKODOVA, Z.; MARMOT, M. Effect of beer drinking on risk of myocardial infarction: population based case-control study. **British Medical Journal**. v. 20, p.1378-1379, 2000.

BOURNE, L.; PAGANGA, G.; BAXTER, D.; HUGHES, P.; RICE-EVANS, C. Absorption of ferulic acid from low-alcohol beer. **Free Radical Res.** v.32 n.3, p. 273-280, 2000.

CAO, G.; BOOTH, S.; SADOWSKI, J. A.; PRIOR, L. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. **American Journal Clinical Nutrition**. v. 68, p. 1081-1087, 1998.

CEREDA, M. P. Cevejas. In: Aquarone, E.; LIMA, U. de A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgard Blucher, 1983. p.44-78.

CHARLTON, A. J.; BAXTER, N. J.; KHAN, M. L.; MOIR, A. J. G.; HASLAM, E.; DAVIES, A. P.; WILLIAMSON, M. P. Polyphenol/peptide binding and precipitation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.50, p. 1593-1601, 2002.

CLARK, J.H.; MURPHY, M.R.; CROOKER, B.A. Supplying the protein needs of dairy cattle from byproducts feeds. **Journal of Dairy Science, Champaign**. v. 70, n. 5, p. 1092-1109, 1987.

COBRACEM. **Cobracem News**. 2003. Disponível em: <http://www.cobracem.org.br/news/cobracem_news.asp>. Acesso em: Fev. 2006.

CODONER, P. Actividad antioxidante de la Fracción polifenólica de la cerveza. In: **I Simpósio Internacional de la Cerveja**. España, 2002.

CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKI, C. K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. São Paulo: Manole, 2002, 580p.

DAVIES, K. J. A. Oxidative stress: The paradox of aerobic life. **Biochemistry Society Symposium**, v.61, p.1-31, 1994.

DECKER, E. A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, , v.55, n.11, p. 396-407, 1997.

DEL CARLO, M.; SACCHETTI, G.; DI MATTIA, C.; COMPAGNONE, D.; MASTROCOLA, D.; LIBERATORE, L.; CICHELLI, A. Contribution of the Phenolic

Fraction to the Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Olive Oil. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.52, n.13, p. 4072 – 4079, 2004.

DENKE, M. A. Nutritional and health benefits of beer. **American Journal Medicine Science**. v. 5, p. 320-326, 2000.

DIPLOCH, A. Antioxidant nutrients and disease prevention, an overview. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 53, p. 189-193, 1991.

DONNELI, J. K.; ROBINSON, D. S. Inveted review free radical in foods. **Free Radical Res**. v.22, n.2, p. 147-176, 1995.

DUTHIE, G. G.; DUTHIE, S. J.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. **Nutrition Research Review**. v.13, p. 79-106, 2000.

EASTWOOD, M. A. Interaction of dietary antioxidants in vivo: Now fruit and vegetables prevent disease?. **QJM**. v.92, n.9, p. 527-530, 1999.

EHRHARDT, P.; SASSEN, H. **A Cevada**. Senai-DR/RJ, 1995. Vassouras, 33p.

ERENEL, G., ERBAS, D., ARICIOGLU, A. Free radicals and antioxidant systems. **Materia Medica Polona**, Warsaw, v.1, n.85, p.37-43, 1993.

FARIA, M. S. **CEVADA – Bagaço de Cevada pode ser usado o ano todo**. 2003. Disponível em: <<http://.internetoffice.com.br/cooper/revista/2003fevereiro/orientação.html>>. Acesso em: Jan. 2006.

FRÉMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life Sciences**. v. 66, n.08, p. 663-673, 2000.

GALATO, D.; GIACOMELLI, C.; CKLESS, K.; SPINELLI, A. Caracterização da atividade antioxidante de compostos fenólicos através de métodos eletroanalíticos. **Livro de resumos**. In: *10º ENQA – Encontro de Química Analítica*, Santa Maria, 1999.

GARDNER P, T.; WHITE T. A. C.; MCPHAIL D. B.; DUTHIE G. G. The relative contribution of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. **Food Chemistry**. v. 67, p. 471-477, 2000.

GINGLIANO, D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. **Nutrition Metabolic Cardiovasc**. v. 10, n.1, p. 38-44, 2000.

GONZALEZ SAN JOSÉ, M. L.; MUNIZ RODRIGUEZ, P.; VALL BELLÉS, Y. V. Actividad antioxidante de la cerveza:estúdios in vitro e in vivo (1º parte). **Cerveza e Salud**. v. 154, p. 47-54, 2001.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LÖLINGER, J.; ARUOMA, O. I. The characterization on antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**. v.33, n.7, p.601-617, 1995. (A)

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methal Enzimology**. v.186, p. 1-85, 1990.

HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O. I. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.1/2, p.7-20, 1995. (B)

HALLIWELL, B. Free radicals and other reactive species in disease. In: Encyclopedia of Life Sciences. **Nature Publishing Group**, p.1-7, 2001.

HALLIWELL, B. Food-derived antioxidants: How to evaluate their importance in food and *in vivo*. In: **Handbook of antioxidants**, 2. ed., Marcel Decker, USA: Enrique Cadenas e Lester Packer, p. 1-33, 2002.

HARBONE, J. B. e Williams, C. A. Advances in flavonoid research since **1992**. **Phytochemistry**, v.52, p. 481-504, 2000.

HARBONE, J. B. **The Flavonoids, Advances in Research since 1986**. New York: Chapman & Hall, 1994

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

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, p.572-584, 2002.

HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Bioavailability and health effects of dietary flavonoids In man. **Archives of Toxicology Supplement**, Berlin, v.20, p. 237-248, 1998.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas, Departamento de Agropecuária. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Municipal**, 2005 Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>>. Acesso em Abr. 2006.

ITO, N.; HIROSE, M. Antioxidants – Carcinogenic And chemopreventive properties. Advances. **Cancer Research**, v. 53, p. 247-291, 1989.

JACOB, R.; BURRY, B. Oxidative damage and defense. **American Journal of Nutrition**, v. 63, p.985 – 989, 1996.

KALNIN, J. L. **Avaliação estratégica para a implantação de pequenas cervejarias**. 1999. 126f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção e Sistemas), Curso de Pós-graduação em Engenharia de Produção e Sistemas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis, 1999.

KARAKAYA, S.; EL, S. N.; TAS, A. A. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. **Introduction Journal Food Science Nutrition**, v. 52, p. 501-508, 2001.

KRAMER, B. **Processo de fabricação da cerveja**. 1999. Disponível em: <<http://www.geocities.com/Colosseum/Park/4053/cerveja.html>>. Acesso em: 03 de Fev. 2006.

KUSKOSKI, E. M. **Caracterización de pigmentos en frutos de baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg)**. 2003. 230f. Tese (Doutorado – Faculdade de Farmácia), Universidade de Sevilla, Sevilla.

KUSKOSKI, E.M.; FETT, R.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M. Propiedades químicas y farmacológicas del fruto guaraná (*Paullinia cupana*). **Vitae. Rev. Fac. Quím. Farm.**, v. 12, n.2, 45-52, 2005.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. Berlim: VLB, 1997.

LIMA, M.L.M. *Resíduo de cervejaria úmido: Formas de conservação e efeitos sobre parâmetros ruminais*. ESALQ, Piracicaba, 1993. (Dissertação de Mestrado).

LLERENA, I. R.; HUERTA, E. M. Vino y corazón. **Rev. Esp. Cardiol.** v. 51, p. 435-449, 1998.

LO, K. M.; CHEUNG, C. K. Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *Agrocybe aegerita* var. alba. **Food Chemistry**, v.89, p. 533-539, 2005.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C.; SCALBERT, A.; RÉMÉSY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal Clinical Nutrition** v. 81 p. 230–242 , 2005.

MARTÍNEZ, J. R. El consumo moderado de cerveza en una dieta sana e equilibrada puede reducir el riesgo cardiovascular. **Cerveza e Salud**, v. 162, p. 65-68, 2004.

MATAIX, J. La Cerveza, Tradición y Cultura Mediterránea. **Cerveza e Salud**, v.161, p. 41-44, 2004.

MATHEW, S.; ABRAHAM, E. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. **Food Chemistry**, 2005.

MCDONALD, S.; PRENZLER, P. D.; ANTOLOVICH, M.; ROBARDS, K. Phenolics content and antioxidant activity of olive extracts. **Food Chemistry**, v. 73 p. 73-84, 2001.

MIRANDA, C. L.; STEVENS, J. F.; IVANOV, V.; MCCALL, M.; FREI, B.; VEINZER, M. L.; UHLER, D. R. Antioxidant and prooxidant actions of prenylated and non-prenylated chalcones and flavanones in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 48, v. 9, p. 3876-3884, 2000.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade Antioxidante das Especiarias Mostarda, Canela e Erva-doce em Sistemas Aquoso e Lipídico. **Nutrire – Rev. Soc.**

Brás. Alim. Nutr. - Journal. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, v. 25, p. 44-45, 2003.

NARDINI, M.; GHISELLI, A. Determination of Free and Bound Phenolic Acid in Beer. **Food Chemistry**, v. 84, p.137-143, 2004.

NAWAR, W.W. Lipids. In: FENNEMA, O.R. **Food chemistry**. 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. p.225-319.

NOEL, S.; LIÉGEOIS, C.; LERMUSIEAU, G.; BODART, E.; BADOT, C.; COLLIN, S. Release of deuterated nonenal during beer aging from labeled precursors synthesized in the boiling kettle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4323-4326, 1999.

PALLI, D. The effects of diet on DNA bulky adduct levels are strongly modified by GSTM1 genotype: a study on 634 subjects. **Carcinogenesis**, v.25, n. 4, p. 577-584, 2004.

PAPADOPOULOU, A.; FRAZIER, R. A. Characterization of protein-polyphenol interactions. **Trends in Food Science & Technology**. v.15, p.186-190, 2004.

PENNINGTON, J. A. T. Food composition databases for bioactive food components. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 419-434, 2002.

REINOLD, M. Tecnologia Cervejeira. **Cervesia**. Ano 1, n.12, ed. Abr. 2003.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radical Res.**, Amsterdam, v. 22, n. 4, p. 375- 383, 1995.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids. **Free Rad. Biol. Med.**, v.7, p. 933-956, 1997.

RODRÍGUEZ, R. J., MIRANDA, C. L., STEVENS, J. F., DEINZER, M. L.; BUHLER, D. Influence of prenylated and non-prenylated flavonoids on liver microsomal lipid peroxidation and oxidative injury in rat hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v.39, n.5, p. 437-445, 2001.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, 130, p. 2073-2085, 2000.

SCHULER, P. Natural antioxidants exploited commercially. In: HUDSON, B.J.F, **Food Antioxidants**, Amsterdam: Elsevier, 1990, p.99.

SERRA, L. **La Cerveja en el Contexto de la Dieta Mediterránea**. In: I Simpósio Internacional de la Cerveza. España, 2002.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.32, n.1, p. 67-103, 1992.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **American Journal Medicine**, v. 91, p. 31-38, 1991.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, v.215, n.2, p. 213- 219, 1993.

SIES. H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Exp. Physiol.** V. 82, p. 291-295, 1997.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**: São Paulo, v. 22, n. 1, p.94-103, 1999.

SIMIC, M.G.; JAVANOVIC, S.V. **Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis.** In: HO, C.T. et ai ed. Food phytochemicals for cancer prevention. Washinton. American Chemical Society, 1994, n. 546, p.20-33.

SLAVIN, J.; MARQUAT, L.; JACOBS, D. Consumption of whole-grain foods and decreased risk of cancer: Proposed mechanisms. **Cereal Food Worlds**, v. 45, p. 54-58, 2000.

SLAVIN, J. Why whole grains are protective: Biological mechanisms. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p.129-134, 2003.

STEINBERG, F. M.; BEARDEN, M. M.; KEEN, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 103, n. 2, p. 215-223, 2003.

TAPIERO, H. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomedic Pharmacotherapy**, v. 56, p. 200-207, 2002.

TEPE, B.; SOLMEN, M.; AKPULAT, A.; SOKMEN, A. *In vitro* antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. **Food Chemistry**, v.90, p. 685-689, 2005.

TOMAS, M. J.. The role of free radicals and antioxidants. **Nutrition**, V.16, p. 716-718, 2000.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas.** Espanha: Acribia, 1997, 487p.

VELIOGLU, Y. S.; MAZZA, G.; GAO L.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 46, n.10, p. 4113-4117, 1998.

WEIBURGER, J. H. Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v. 226, n.10, p. 891-897, 2001.

WEINREB, O.; MANDEL, S.; AMIT, T.; YODIM, M. B. H. Neurological mechanisms of green tea polyphenols in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.15, p. 506-516, 2004.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, v. 33, p. 449-459, 2000.

YOUNG, J. F.; NIELSEN, S. E.; HARALDSDOTTIR, J.; DANESFVAR, B.; LAURIDSEN, S. T.; KNUTHSEN, P.; CROZIER, A.; SANDSTROM, B.; DRAGSTED, L. O. Effect of fruit juice intake on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 69, p. 87-94, 1999.

YU, T-W.; ANDERSON, D. Reactive oxygen species induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. **Mutation Research**, v. 379, n. 2, p. 201-210, 1997.

YU, J.; VASANTHAN, T; TEMELLI, F. Analysis of phenolic acids in barley by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 4352 - 4358, 2001.

ZUANAZZI, J. A. Z.; MONTANHA J. A. 2003. Flavonóides. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, p. 576-614.

CAPÍTULO 2

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS DA
CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) E DO CHOPP**

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS DA CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) E DO CHOPP

Resumo

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) componente essencial na produção de cervejas e chopp, e considerado um cereal de elevado consumo em todo mundo e por causa de suas propriedades dietéticas, esta associada a efeitos benéficos à saúde humana. Sendo rica em diversos compostos entre eles as β -glucanas (fibra alimentar solúvel) e os compostos fenólicos (ácidos fenólicos). Os flavonóides e outros compostos fenólicos são indicados e sugeridos na prevenção de diversas doenças degenerativas do cérebro e doenças do coração, entre outros múltiplos efeitos biológicos, incluindo a atividade antioxidante. O objetivo deste trabalho foi determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais e flavanóis naturalmente presentes cevada *in natura* triturada, utilizada na produção de chopp e cervejas, assim como determinar a atividade antioxidante *in vitro* de extratos obtidos através de dois métodos de extração, direto e seqüencial. Também se objetivou determinar a atividade antioxidante e compostos fenólicos do chopp produzidos com esta cevada. Para determinar atividade antioxidante se utilizou o radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin 6-sulfônico) e o radical DPPH[•] (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo), na determinação dos polifenóis totais, o método de Folin-Ciocalteu e para determinar os flavanóis o método DMACA. Entre todos os extratos, o extrato acetona 70% foi o mais efetivo sendo representado em TEAC (atividade antioxidante equivalente a Trolox) a atividade antioxidante encontrada foi 1779,75 μ Mol TEAC/100g e o conteúdo de polifenóis totais de 292 mg equivalente a ácido gálico (GAE)/100g. Esses resultados expressam que a cevada analisada apresentou-se como uma fonte rica em conteúdo de compostos fenólicos que estão relacionadas com a capacidade antioxidante determinada.

Palavras-chave: cevada, atividade antioxidante, compostos fenólicos

1. INTRODUÇÃO

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) representa o quarto cereal mais utilizado no mundo, logo após o trigo, arroz e milho. Sua utilização para fins não cervejeiros inclui ração animal, alimentação humana e aplicações industriais (BHATTY, 1993).

O Brasil produziu, nas últimas safras em torno de 392.490 toneladas, comparado com 275.881 toneladas em 2003, com uma produtividade de 2.778 kg/ha (IBGE, 2005). A cevada é um dos cereais mais utilizados na produção da cerveja, conseqüentemente maior subproduto da cervejaria, aproveitado na alimentação animal como suplemento protéico, sendo comparado ao farelo de soja em valor nutricional (FARIA, 2003).

Em relação ao consumo humano, têm-se observado um recente interesse pelo uso deste cereal, devido as suas propriedades dietéticas, associadas a benefícios com a saúde. A cevada é conhecida pelo seu alto conteúdo em fibra alimentar solúvel (β -glucanas), que diminui o colesterol plasmático e índice glicêmico, além de reduzir o risco de câncer de cólon (ANDERSON, ANDERSON, ÂMAN 2000; SLAVIN, MARQUAT e JACOBS, 2000).

Os compostos fenólicos apresentam-se como excelente fonte doadora de elétrons, atuando como antioxidantes pelo seqüestro de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, e também modulando diversas enzimas na defesa do corpo contra o *stress* oxidativo (SLAVIN, 2003). O alto consumo de compostos fenólicos está correlacionado com a redução do risco de doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (DUTTHIE; DURTHIE e KYLE, 2000; TAPIERO et al, 2002).

Nos cereais os compostos fenólicos podem ser encontrados na forma livre, solúvel ou conjugados (YU, VASANTAHAN e TEMELLI, 2001), tanto no endosperma, como no gérmen e nas frações de farelo. A maior parte destes compostos encontra-se na forma conjugada, esterificada aos polissacarídeos das paredes celulares (ADOM e LIU, 2002). Os principais grupos de compostos fenólicos encontrados nos cereais são os flavanóis, derivados hidroxicinâmicos e flavonóis (MAILLARD et al., 1996).

Este trabalho teve por objetivo determinar a atividade antioxidante *in vitro* de extratos obtidos da cevada, preparados com três diferentes solventes: acetona, álcool e água, utilizando extração direta e extração sequencial, através dos métodos: ABTS e DPPH, assim como determinar os compostos fenólicos totais e os

flavanóis e correlacionar-los com a capacidade antioxidante. Também se objetivou determinar a atividade antioxidante e compostos fenólicos do chopp produzidos com esta cevada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

As amostras da cevada e chopp, provenientes do mesmo processo e condições de fabricação foram doadas pela empresa: Cervejaria da Ilha, Chopp Ilhéu, localizada no município de Florianópolis (SC). As amostras de chopp foram desgaseificadas, durante duas horas, e armazenadas em frasco âmbar a -18°C até as posteriores análises. As amostras de grãos de cevadas foram trituradas em moinho analítico (IKA, A11, granulados até 60 mesh) com o objetivo de obter uma granulometria homogeneia para obter uma melhor qualidade de extração, e armazenadas a -18°C . As amostras foram adquiridas de três diferentes lotes, denominados lote 01, 02, 03. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Obtenção dos extratos da cevada

Com objetivo de otimizar e determinar quais solventes se obteria a melhor extração dos compostos fenólicos e compostos aos quais se poderia atribuir atividade antioxidante, as amostras, trituradas de cevada, foram submetidas à extração seqüencial de acordo com o método descrito por MOREIRA e MANCINI-FILHO (2003), com algumas modificações. Os extratos foram preparados utilizando três diferentes solventes: acetona, etanol e água. Foram pesados inicialmente, 5 gramas da amostra e adicionados 25 mL de acetona onde foram agitados em um homogeneizador por 2 horas a temperatura ambiente ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Após, as soluções foram filtradas em funil de *Büchner*, completando o volume para 50 mL, com acetona. Os resíduos foram recuperados, secos em estufa a 45°C , e as perdas foram pesadas e calculadas para a obtenção dos demais extratos com álcool etílico, e em seguida com água deionizada, procedendo sempre da mesma forma e condições que foi preparado o extrato acetônico. Também foram realizadas extrações diretas com diferentes concentrações do melhor solvente extrator, neste

caso a acetona, em proporções de 30, 50, 70 e 100% (v/v). Para a extração direta se aplica até a parte em que o volume é completado com o respectivo solvente, a partir daí os resíduos são descartados e o extrato está preparado para as análises.

2.3 Determinação de compostos fenólicos totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu (ROSSI, 1965). Os resultados obtidos foram calculados com base no ácido gálico como padrão, preparou-se uma curva e os resultados foram calculados e representados graficamente, utilizando o gradiente concentração em função da absorbância. Foram expressos em mg ácido gálico/100g de massa úmida (MU).

2.4 Determinação de flavanóis

A determinação de flavanóis foi realizada aplicando o método DMACA (*p*-dimetilaminocinmaldeído), descrito por ARNOUS; MAKRIS e KEFALAS, 2002. A concentração total de flavanóis foi estimada conforme a curva de calibração, preparada com solução de catequina (1-16 mg de catequina/L). Os resultados foram expressos em equivalente a mg catequina/100g de amostra.

2.5 Determinação da atividade antioxidante

Método ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico)

O método ABTS utilizado foi o método descrito por RE et al. (1999) e modificado por KUSKOSKI et al. (2004). O radical ABTS^{•+} é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado o radical ABTS^{•+} foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorbância de 0,70 (\pm 0,02) a um comprimento de onda de 754 nm a uma temperatura de equilíbrio de 30°C. Absorbância foi medida em espectrofotômetro modelo (Hewlett-Packard 8425A), nos tempos 1, 4 e 7 minutos após a adição da amostra. Preparou-se curvas com soluções padrões de Trolox (antioxidante sintético similar a vitamina E). Os resultados foram expressos em TEAC, atividade

antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de amostra de cevada e $\mu\text{Mol TEAC}/\text{L}$ de amostra de chopp.

Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Desenvolvido por BRAND-WILLAMS et al., (1995) o método DPPH tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH^{*} por antioxidantes. Com modificações KIM et al., (2002) aplicam método com base na absorbância do radical de DPPH^{*} 100 μM (3,9 mL) dissolvido em metanol a 80% no comprimento de onda de 517 nm. Ao adicionar 0,1 mL da amostra ou padrão, se homogeneiza cuidadosamente e se mantém em local escuro, a temperatura ambiente, por 30 minutos. A medida de absorbância é realizada no comprimento de onda de 517 nm, do radical antes de adicionar a amostra (A_0) e depois de adicionar amostra 30 e 60 minutos de reação (A_f). A concentração de DPPH^{*} no meio de reação calcula-se conforme a curva de calibração obtida por regressão linear. Os resultados também são expressos em TEAC, em $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de amostra de cevada e $\mu\text{Mol TEAC}/\text{L}$ de amostra de chopp.

2.6 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e todos os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Foram realizadas análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias, usando o programa *Statistica*[®] 6.0. Diferenças entre as medias no nível de 5% ($P < 0,05$) foram consideradas significantes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de compostos fenólicos totais em cereais pode variar de 20-130 mg/100g GAE (KÄHKÖNEN et al., 1999). Os resultados dos diferentes solventes utilizados na extração seqüencial na determinação dos polifenóis totais estão representados na **Tabela 1**. Observa-se que a acetona foi mais efetiva, extraindo $209,42 \pm 2,33$ mg/100g GAE (lote 1) que representa cerca de 65,1% do valor total, seguida da extração aquosa (29,1%) e extração etanólica (5,8%). Não foram

observadas diferenças estatísticas significativas a nível de 95% de confiança, entre os lotes 1, 2 e 3, em todos os solventes aplicados, tanto para o conteúdo de compostos fenólicos como no valor TEAC obtido as análises de atividade antioxidante (**Figura 1**).

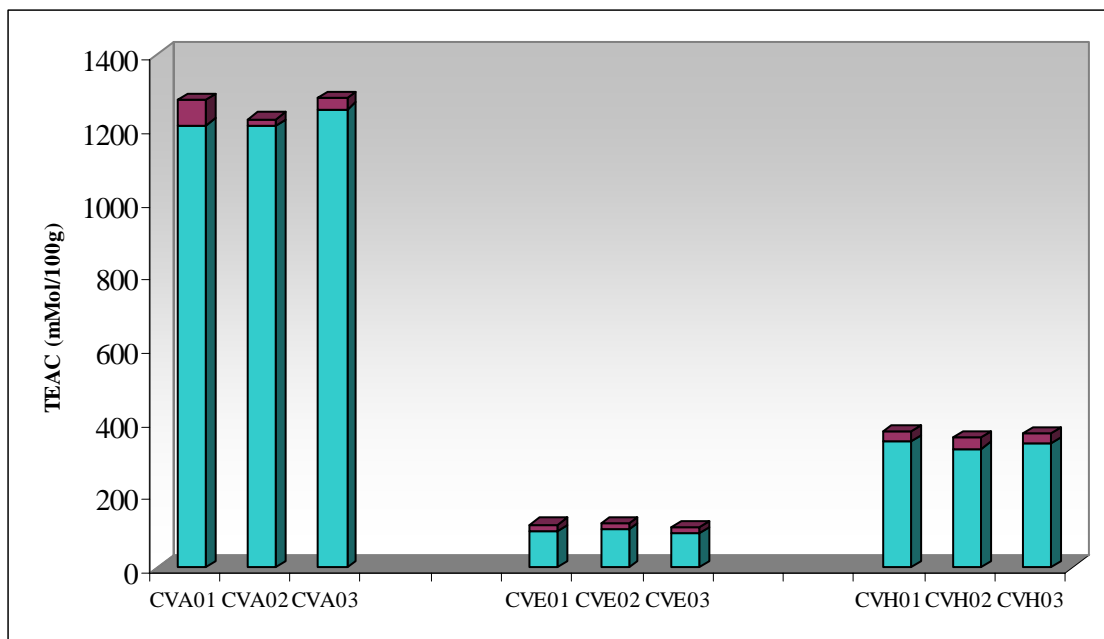


Figura 1. Representação gráfica da atividade antioxidante (TEAC), pelo método ABTS dos extratos de cevada obtidos por extração seqüencial. CVA: extrato obtido da cevada com acetona (lotes 01,02 e 03); CVE: extrato obtido da cevada com etanol (lotes 01,02 e 03); CVH: extrato obtido da cevada com água (lotes 01,02 e 03);

A soma total de polifenóis obtido no procedimento de extração seqüencial (acetona, álcool etílico e água) foi de aproximadamente 320 mg equivalente a ácido gálico (GAE)/g de cevada em pó ($P < 0,05$) (**Tabela 1**). Sendo 321,54 mg/100g GAE obtidos para o lote 1, de 316,92 mg/100g GAE para o lote 2 e 321,75 mg/100g GAE para o lote 3.

Os resultados obtidos da capacidade antioxidante, por lote, determinadas pelo método ABTS, foram em média de 1266 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de cevada em pó. Sendo de 1195,62 $\mu\text{Mol}/100\text{g}$ obtidos para o lote 1, de 1172,41 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ para o lote 2 e de 1429,77 $\mu\text{Mol}/100\text{g}$ para o lote 3 obtidos nas medidas em 1 minuto de reação.

Tabela 1. Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) determinada pelo método ABTS.

Amostra	IPT ^a (mg/100g)	TEAC ^a (μMol/100g)	TEAC ^b (μMol/100g)	TEAC ^c (μMol/100g)
CVA01	209,42 ± 2,33	1007,94 ± 95,62	1207,50 ± 83,73	1242,96 ± 80,92
CVA02	205,21 ± 4,07	1014,68 ± 45,41	1204,85 ± 23,43	1240,89 ± 27,87
CVA03	208,87 ± 1,57	1232,13 ± 21,97	1248,98 ± 37,81	1273,35 ± 32,23
CVE01	18,59 ± 1,17	43,87 ± 7,09	97,01 ± 24,64	104,51 ± 27,09
CVE02	18,61 ± 1,18	46,84 ± 12,94	97,56 ± 14,62	108,44 ± 24,65
CVE03	18,85 ± 1,55	45,30 ± 3,97	97,65 ± 16,78	108,70 ± 21,17
CVH01	93,53 ± 3,85	143,81 ± 27,41	343,06 ± 33,29	393,87 ± 49,61
CVH02	93,10 ± 1,55	110,89 ± 4,51	325,14 ± 34,74	367,56 ± 31,94
CVH03	94,03 ± 3,48	152,34 ± 16,45	352,67 ± 7,24	395,07 ± 30,14

CVA: extrato obtido da cevada com acetona (lotes 01,02 e 03); CVE: extrato obtido da cevada com etanol (lotes 01,02 e 03); CVH: extrato obtido da cevada com água (lotes 01,02 e 03); ^aatividade antioxidante obtida em 1 min; ^batividade antioxidante obtida em 7 min; ^catividade antioxidante obtida em 10 min;

No chopp o conteúdo de compostos fenólicos varia de 314,3-360,7 mg GAE/L (Tabela 2). Os resultados obtidos da capacidade antioxidante, por lote, determinadas pelo método ABTS, foram em média de 2778,03 μMol TEAC/L no lote 1, de 2407,42 μMol TEAC/L no lote 2 e de 2113,02 μMol TEAC/L no lote 3. Se observa que houve diferença estatisticamente significativa entre lotes, isto se deve possivelmente a diferente composição na elaboração e condições de fabricação.

Tabela 2. Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de chopp determinadas pelo método ABTS.

Amostra	IPT ^a (mg/L)	TEAC ^a (μMol/L)	TEAC ^b (μMol/L)	TEAC ^c (μMol/L)
Chopp01	360,71 ± 20,1 ^a	1864,63 ± 149,4	2521,31 ± 145,8	2778,03 ± 139,1
Chopp02	351,37 ± 7,36 ^a	1380,73 ± 184,1	2199,12 ± 251,7	2407,42 ± 260,3
Chopp03	314,31 ± 11,38 ^b	1019,48 ± 148,3	1924,76 ± 162,9	2113,02 ± 145,7

Chopp: lotes 01, 02 e 03. ^a atividade antioxidante obtida em 1 min; ^b atividade antioxidante obtida em 7 min; ^c atividade antioxidante obtida em 10 min; Letras diferentes na mesma coluna implicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre as amostras pelo Teste de Tukey.

O coeficiente de correlação entre o conteúdo de polifenóis totais e a atividade antioxidante encontrado para as amostras de cevada foi de r^2 0,9612 ($P < 0,05$) (Figura 2). E para as amostras de chopp a correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos continua elevada, r^2 0,8496 ($P < 0,05$). Os resultados obtidos indicam que a cevada é um produto com capacidade antioxidante significativa, e que está correlacionados ao conteúdo de compostos fenólicos totais.

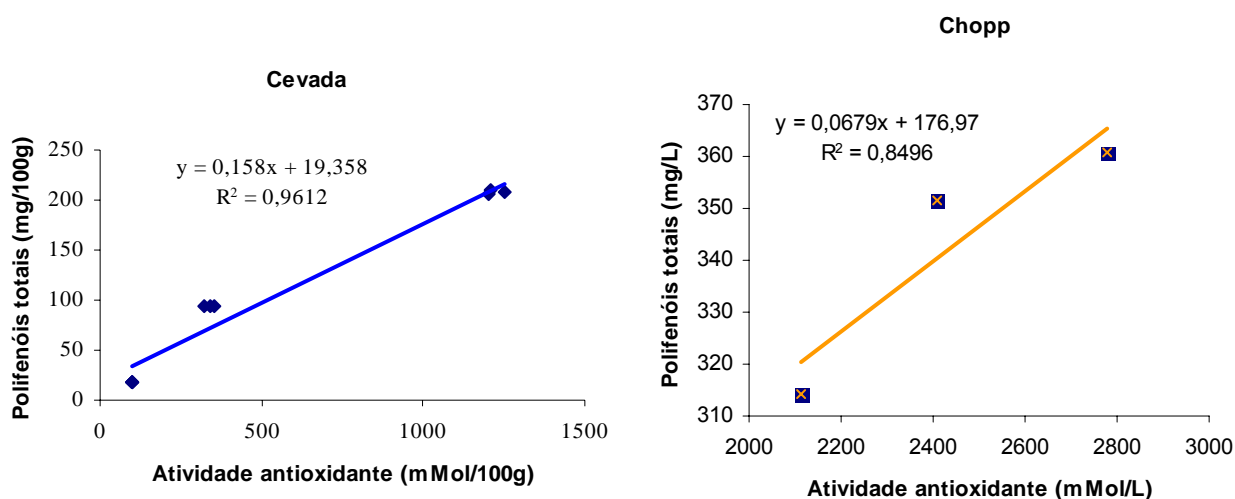


Figura 2. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos de cevada (*Hordeum vulgare* L.) e do chopp, com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.

A atividade antioxidante encontrada para as extrações obtidas com acetona 30%, 50%, 70% e 100%, variam de 1141,38 a 1779,75 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de cevada em pó (Tabela 3). Sendo estes valores similares para os três lotes analisados. A máxima atividade encontrada foi para amostra de cevada extraída com acetona 70% foi de 1779,75 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$, medida no tempo de 1 minuto. O valor obtido da atividade antioxidante com acetona 70% foi superior ao valor máximo obtido com a soma da extração seqüencial (1266 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$).

Tabela 3. Índice de polifenóis totais (IPT), flavanóis e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) de extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) com acetona em diferentes concentrações.

Amostras	IPT (mg/100g)	Flavanóis ^a (mg/100g)	ABTS - TEAC ^a (μMol/100g)	DPPH – TEAC ^b (μMol/100g)
CPó ac 30%	253,36 ± 3,64 a	23,74 ± 0,33 a	1528,65 ± 52,43 a	866,31 ± 5,38 a
CPó ac 50%	275,73 ± 24,36 a,b	32,15 ± 0,59 b	1644,56 ± 103,03 a,b	892,62 ± 31,16 a,b
CPó ac 70%	291,83 ± 11,45 b	34,01 ± 0,63 c	1779,75 ± 77,01 b	997,68 ± 2,7 c
Cpó ac 100%	208,18 ± 2,32 c	25,58 ± 0,72 d	1141,38 ± 18,63 c	897,42 ± 6,03 a,b

Cpó ac 30%: extrato cevada obtido com acetona 30% (v/v); Cpó ac 50%: extrato cevada obtido com acetona 50% (v/v); Cpó ac 70%: extrato cevada obtido com acetona 70% (v/v); Cpó ac 100%: extrato cevada obtido com acetona 100%. ^a atividade antioxidante obtida em 1 min; ^b atividade antioxidante obtida em 30 min.

Letras diferentes na mesma coluna implicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre as amostras pelo Teste de Tukey.

A atividade antioxidante encontrada para as extrações obtidas com acetona 30%, 50%, 70% e 100%, variam de 1141,38 a 1779,75 μMol TEAC/100g de cevada em pó (**Tabela 3**). Sendo estes valores similares para os três lotes analisados. A máxima atividade encontrada foi para amostra de cevada extraída com acetona 70% foi de 1779,75 μMol TEAC/100g, medida no tempo de 1 minuto. O valor obtido da atividade antioxidante com acetona 70% foi superior ao valor máximo obtido com a soma da extração seqüencial (1266 μMol TEAC/100g).

Segundo YILMAZ et al (2006) etanol e água deionizada como solventes isolados foram ineficazes para extrair compostos fenólicos. Observando os valores obtidos com cevada em pó neste trabalho, em extração seqüencial, realizamos a extração com melhor solvente observado, acetona em diferentes proporções de água deionizada (**Figura 3**).

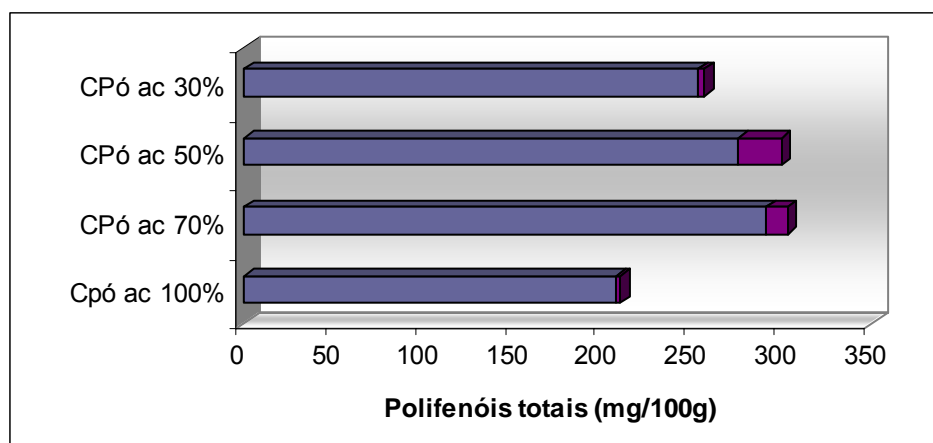


Figura 3. Índice de polifenóis totais dos extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) com diferentes concentrações de acetona dos extratos de cevada obtidos por extração direta. CPó ac 30: extrato obtido da cevada com acetona 30%; CPó ac 50: extrato obtido da cevada com acetona 50%; CPó ac 70: extrato obtido da cevada com acetona 70%; CPó ac 100: extrato obtido da cevada com acetona 100%.

Dos solventes aplicados, acetona 30%, 50% e 70% e 100%, para extrair compostos fenólicos. A acetona a 70% foi melhor solvente extrator, para compostos fenólicos, se obteve cerca 292 mg equivalente a ácido gálico (GAE)/100g (**Tabela 2**).

Na análise estatística da atividade antioxidante dos extratos obtidos tanto com acetona 30%, 50%, 70% e 100%, determinadas pelo método ABTS e medidas nos tempos 1, 4 e 7 minutos (**Figura 4**), a nível de 95% de confiança ($P < 0,05$) demonstrou que as medidas obtidas em 1 minuto apresentam diferença estatística enquanto que as amostras obtidas nos tempos 4 e 7 não apresentam diferenças significativas.

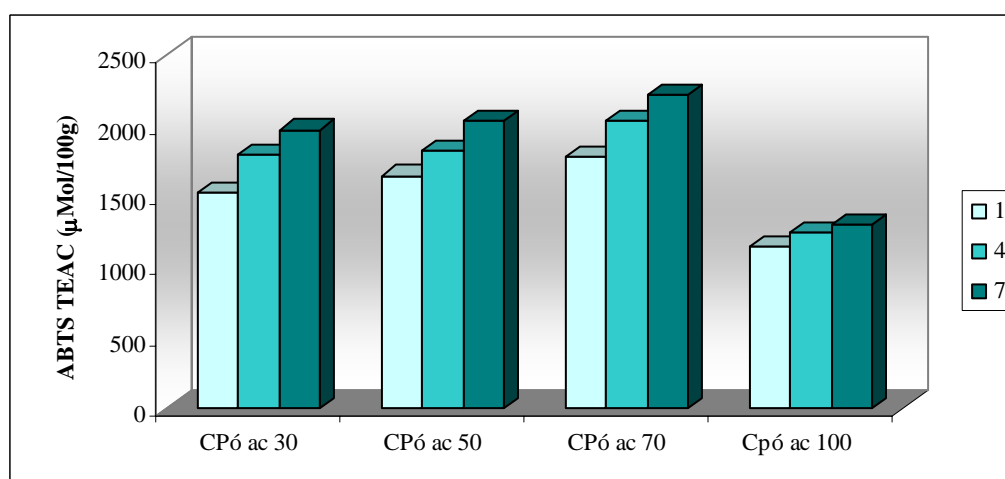


Figura 4. Atividade antioxidante determinada pelo método ABTS dos extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) com diferentes concentrações de acetona dos extratos de cevada obtidos por extração direta. CPó ac 30: extrato obtido da cevada com acetona 30%; CPó ac 50: extrato obtido da cevada com acetona 50%; CPó ac 70: extrato obtido da cevada com acetona 70%; CPó ac 100: extrato obtido da cevada com acetona 100%.

Tanto para as análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante os valores obtidos com extração a 30% e 70% não diferem estatisticamente com os valores obtidos a 50%, já os valores obtidos a 100% são estatisticamente diferentes, a nível de 95% de confiança ($P < 0,05$). Na determinação de compostos flavanóis resultados expressos em catequina, se obteve para todas as extrações valores estatisticamente diferentes (**Tabela 3**).

O coeficiente de correlação entre o conteúdo de polifenóis totais e a atividade antioxidante dos extratos obtidos com acetona 30%, 50% e 70% foi maior (r^2 0,9976) que o coeficiente obtido com a extração seqüencial (r^2 0,9612) (**Figura 5**).

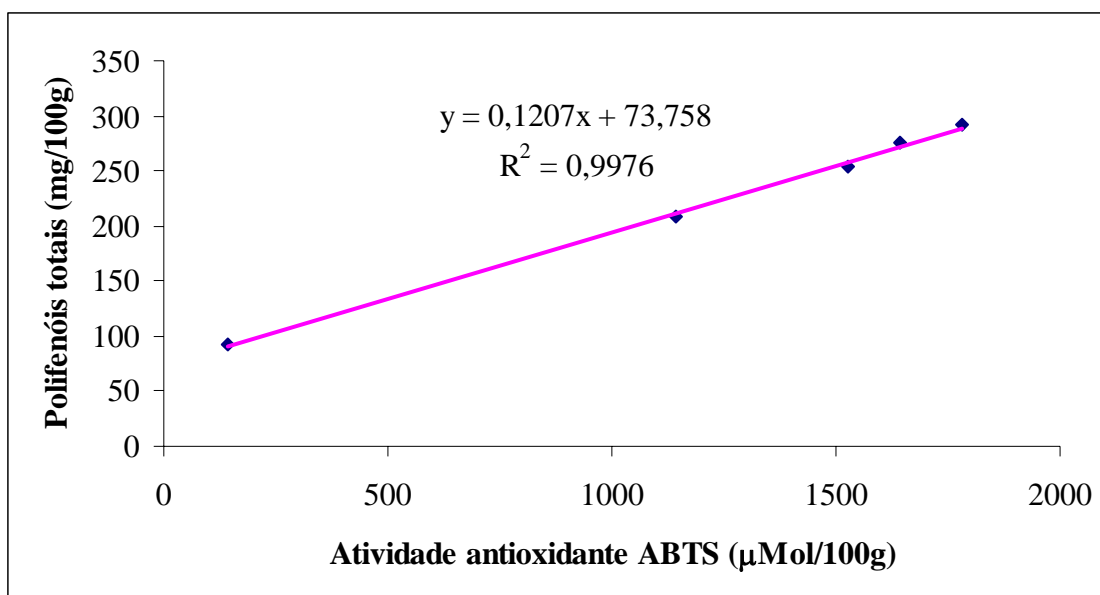


Figura 5. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos obtidos da cevada (*Hordeum vulgare* L.) em diferentes concentrações de acetona (30, 50, 70 e 100%) com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.

Os resultados da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH são reprodutíveis (**Tabela 3**), embora sejam menores, variando de 866,31 a 997,68 μMol TEAC/100g se determinado em 30 minutos e de 927,52 a 1035,23 μMol TEAC/100g em 60 minutos. Observa-se que o extrato obtido com acetona 70% foi melhor solvente extrator, e foi diferente estatisticamente dos demais extratos. Enquanto que os extratos obtidos com acetona 50% e 100% não apresentaram diferenças significativas.

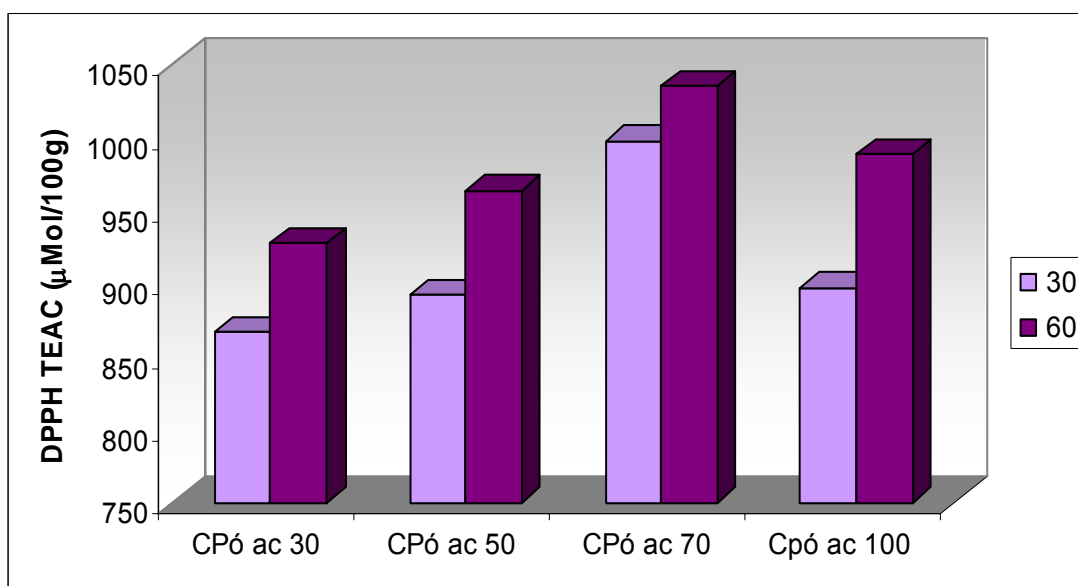


Figura 6. Atividade antioxidante (DPPH) de extratos de cevada (*Hordeum vulgare* L.) com acetona em diferentes concentrações nos tempos 30 e 60 minutos, obtidos por extração direta. CPó ac 30: extrato obtido da cevada com acetona 30%; CPó ac 50: extrato obtido da cevada com acetona 50%; CPó ac 70: extrato obtido da cevada com acetona 70%; CPó ac 100: extrato obtido da cevada com acetona 100%.

Graficamente, na **Figura 6**, se demonstra a influência da proporção aquosa na extração dos compostos fenólicos e por consequência na influência da determinação da atividade antioxidante (DPPH) e a diferença entre os valores obtidos em 30 e 60 minutos de determinação.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que a cevada é um produto que apresenta capacidade antioxidante, e que esta correlacionada ao conteúdo de compostos fenólicos, e pode ser fonte de compostos fenólicos na produção de cervejas e chopp. Os extratos obtidos com acetona 70% foram superiores ao valor máximo obtido com a soma da extração seqüencial, sendo assim a extração direta com acetona foi mais efetiva. Entre os métodos aplicados, o método ABTS apresentou melhor resultado no tempo de 7 minutos. Os resultados da atividade antioxidante foram elevados tanto para a determinação pelo método ABTS como DPPH, embora o método ABTS tenha apresentado maiores valores.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, e a microcervejaria: Cervejaria da Ilha - Chopp Ilhéu[®], Florianópolis – SC, pelo fornecimento das amostras de cevada, para realização deste estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.6182–6187, 2002.

ANDERSON, A. A. M.; ANDERSON, R.; AMAN, P. Air classification of barley flours. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 463-467, 2000.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.

BATTY, R. S. Non malting uses of barley. In: **Barley: chemistry and technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemistry. 1993, p. 355-417.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.** v.22, p. 25-30. 1995.

DUTHIE, G. G.; DUTHIE, S. J.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. **Nutrition Research Review**. v.13, p. 79-106, 2000.

FARIA, M. S. **CEVADA – Bagaço de Cevada pode ser usado o ano todo**. 2003. Disponível em: <<http://.internetoffice.com.br/cooper/revista/2003fevereiro/orientação.html>>. Acesso em: Jan. 2006.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas, Departamento de Agropecuária. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola Municipal**, 2005 Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>>. Acesso em Abr. 2006.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; HAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plants extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p. 3954-3962, 1999.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARILLA, M. C.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.4, 2004, p. 691-693.

MAILLARD, M.-N.; SOUM, M.-H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **Lebensm. Wiss. Technol**, v.29, p. 238-244, 1996.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade Antioxidante das Especiarias Mostarda, Canela e Erva-doce em Sistemas Aquoso e Lipídico. **Nutrire – Rev. Soc. Brás. Alim. Nutr. - Journal. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, v. 25, p. 44-45, 2003.

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 Biological Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

ROSSI, J. A. Jr.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enol. Vitic.** v. 16, p. 144-158, 1965.

SLAVIN, J. Why whole grains are protective: Biological mechanisms. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, p.129-134, 2003.

SLAVIN, J.; MARQUAT, L.; JACOBS, D. Consumption of whole-grain foods and decreased risk of cancer: Proposed mechanisms. **Cereal Food Worlds**, v. 45, p. 54-58, 2000.

TAPIERO, H. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? **Biomedic Pharmacotherapy**, v. 56, p. 200-207, 2002.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19. p. 41-48. 2006.

YU, J.; VASANTHAN, T; TEMELLI, F. Analysis of phenolic acids in barley by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p. 4352 – 4358, 2001.

CAPÍTULO 3

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO DO RESÍDUO (Bagaço de brassagem) DA PRODUÇÃO DE CHOPP EM MICROCERVEJARIA

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSIÇÃO DO RESÍDUO (Bagaço de brassagem) DA PRODUÇÃO DE CHOPP EM MICROCERVEJARIA

Resumo

Bagaço da cevada é produto da brassagem ou mosturação, que se forma durante a maltação da cevada. Quando se procede à mistura do malte com a água em temperaturas pré-estabelecidas às enzimas que se formaram durante a maltação da cevada começam a atuar sobre a molécula do amido, fazendo com que este se reduza em um açúcar fermentativo, na produção da cerveja e chopp. Este resíduo tem sido empregado na forma de farinha, na produção de biscoitos, com o objetivo de incrementar o teor de fibras e proteínas deste alimento. Com objetivo de determinar se este resíduo pode ser fonte de compostos fenólicos, foi realizado o estudo da sua composição centesimal e dos compostos fenólicos obtidos no processo de extração com diferentes solventes, na forma úmida e seca. Determinou-se a atividade antioxidante *in vitro* de extratos acetônico, alcoólico e aquoso, através de dois diferentes métodos. Para determinar atividade antioxidante se utilizou o radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin 6-sulfônico) e o radical DPPH[•] (2,2- Difetil-1-picrilhidrazilo), para determinar os polifenóis totais aplicou-se o método de Folin-Ciocalteu e para determinar os flavanóis, o método DMACA. Elevado conteúdo total de compostos fenólicos permaneceram no bagaço, em média 114,81 mg GAE/100g de bagaço úmido e 180,58 mg GAE/100g de bagaço seco, ambos obtidos pela extração seqüencial. A atividade antioxidante no bagaço úmido variou de 98,92 a 427,99 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ e de 167,26 a 680,81 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de bagaço seco. Já o conteúdo total de polifenóis extraído com acetona 70% foi 122,64 mg GAE/100g de amostra e a atividade antioxidante determinada pelo método ABTS foi de 580,36 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ e de 496,59 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ determinada com método DPPH. Os coeficientes de correlação entre conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram maiores no bagaço seco, tanto para amostras extraídas pelo método seqüencial ou método direto.

Palavras-chave: bagaço de brassagem, atividade antioxidante, compostos fenólicos

1. INTRODUÇÃO

As matérias-primas essenciais para a fabricação da cerveja são: água, malte, complementos de malte, levedura e lúpulo. Outros componentes podem ser utilizados, de acordo com o tipo, a tradição ou a preferência local (MATAIX, 2004; MARTINEZ, 2004).

Malte é um termo técnico utilizado para definir a matéria-prima resultante da germinação de qualquer cereal sob condições controladas. Quando não há indicação, subentende-se que é feito de cevada e em qualquer outro caso, acrescenta-se o nome do cereal, por exemplo: malte de trigo, de centeio e de outros cereais (KUNZE, 1997).

O processo de fabricação do malte chama-se maltagem, que envolve o controle do umedecimento com água e posterior germinação sob condições controladas de temperatura com o intuito de obter mudanças físicas e químicas desejadas, com uma perda mínima de energia pelo processo de respiração (KALNIN, 1999).

Na Alemanha a maioria das cervejas segue a lei de pureza promulgada pelo príncipe William IV da Bavaria em 1516 que obriga o uso de cevada, água e lúpulo, e nenhum outro ingrediente na elaboração da cerveja (DELOS, 1994 *apud* KALNIN, 1999). No entanto no Brasil, há cervejas feitas de trigo como, por exemplo, a *Weizenbier* que tem em sua formulação cerca de 50 % de malte de trigo, e é fermentada por uma levedura especial, dando a cerveja um sabor frutado ligeiramente ácido (KALNIN, 1999).

Quando se procede à mistura do malte com a água em temperaturas pré-estabelecidas às enzimas que se formaram durante a maltação da cevada começam a atuar sobre a molécula do amido (polissacarídeo), fazendo com que este se reduza em um açúcar fermentativo (de menor cadeia molecular) (REINOLD, 2003). A este processo se denomina brassagem ou também mosturação. Após se obter a sacarificação completa da brassagem é feita a separação do líquido açucarado denominado mosto, do restante dos resíduos pastosos como casca, proteína, amido não convertido e outras substâncias impróprias para a boa formação do mosto e conseqüentemente da cerveja. Estas impurezas são denominadas de bagaço (REINOLD, 2003).

O bagaço da cevada tem um período relativamente curto de conservação por conter elevados valores de umidade, ao redor de 80 %, favorecendo o aparecimento de mofos e fungos, diminuindo o consumo por parte dos animais e aumentando as perdas do material, o que significa descarte de grandes quantidades de uma possível matéria-prima ou fonte de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes (FARIA, 2003). Algumas pesquisas têm sugerido o emprego do bagaço de cevada (sob forma de farinha de bagaço de cevada), em substituição à farinha de trigo, aplicados em biscoitos tipo “gressinis”, com o objetivo de incrementar o teor de fibras e proteínas deste alimento (CORRÊA e VALDUGA, 2002).

O principal objetivo deste trabalho foi determinar a atividade antioxidante *in vitro* de extratos acetônico, alcoólico e aquoso obtidos dos resíduos (bagaço de brassagem) obtidos na produção de chopp, através de dois diferentes métodos: ABTS e DPPH, assim como determinar os a composição centesimal deste bagaço, os compostos fenólicos totais e os flavanóis e correlacionar-los com capacidade antioxidante.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras de bagaço de brassagem

As amostras de bagaço residual de brassagem foram cedidas por uma micro cervejaria e divididas em duas partes, uma parte foi utilizada na sua forma úmida, assim denominado como “Bagaço úmido” (BGU) e submetida a trituração com o auxílio de um moinho (IKA, A11 Basic), com a finalidade de reduzir o tamanho das partículas da amostra, aumentando a superfície de contato e melhorando o rendimento de extração dos compostos. A outra parte da amostra sofreu o processo de secagem. A princípio as enzimas foram inativadas a 80°C por 10 min (MAILLARD et al., 1996) logo se prosseguiu com a secagem das amostras em estufa de ar circulante a 40°C por 24 horas, denominadas então como “Bagaço seco” (BGS). Em seguida as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas e então armazenadas em freezer a -18 °C até a posterior extração de compostos bioativos com diferentes tipos de solventes. Estas amostras foram adquiridas de três lotes diferentes, denominados lote 01, 02, 03. As análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Composição centesimal

Para a análise da composição centesimal, foram utilizados resíduos de cervejaria úmido (bagaço de brassagem). As análises para a determinação dos teores de matéria seca, proteína (N x 5,36), extrato etéreo, fibra total e de cinzas foram realizadas de acordo com a metodologia indicada pela AOAC, 2005. A determinação de carboidrato foi calculada por diferença: 100-(umidade+cinza+extrato etéreo+proteína+fibras) (MORETTO et al., 2002).

2.3 Processo de obtenção dos extratos do bagaço da cevada

Para obter os extratos, o bagaço de cevada foi submetido à extração seqüencial de acordo com o método descrito por MOREIRA e MANCINI-FILHO (2003), com algumas modificações. Os extratos foram preparados utilizando três diferentes solventes: acetona, etanol e água. Foram pesados inicialmente, 5 gramas da amostra e adicionados 25 mL de acetona onde foram agitados em um homogeneizador por 2 horas a temperatura ambiente ($24 \pm 1^\circ\text{C}$). Após, as soluções foram filtradas em funil de *Büchner*, completando o volume para 50 mL, com acetona. Os resíduos foram recuperados, secos em estufa a 45°C , e as perdas foram pesadas e calculadas para a obtenção dos demais extratos com álcool etílico, e em seguida com água deionizada, procedendo sempre da mesma forma utilizada para a preparação do extrato acetônico. Também foram realizadas extrações diretas com diferentes concentrações do melhor solvente extrator, neste caso a acetona, em proporções de 30, 50, 70 e 100% (v/v). Para a extração direta se aplica até a parte em que o volume é completado com o respectivo solvente, a partir daí os resíduos são descartados e o extrato está preparado para as análises.

2.4 Determinação de compostos fenólicos totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu (ROSSI, 1965). Os resultados foram representados utilizando ácido gálico como padrão, preparou-se uma curva e os resultados foram calculados e representados graficamente, utilizando o gradiente concentração em

função da absorvância. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico/100g de amostra (mg GAE/100g).

2.5 Determinação de flavanóis

A determinação de flavanóis foi realizada aplicando-se o método DMACA (*p*-dimetilaminocinmaldeído), descrito por ARNOUS; MAKRIS y KEFALAS, 2002. A concentração total de flavanóis foi estimada conforme a curva de calibração, preparada com solução de catequina (1-16 mg de catequina/L). Os resultados foram expressos em equivalente a mg catequina/100g de amostra.

2.6 Determinação da atividade antioxidante

Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico)

O método ABTS utilizado, foi o método descrito por RE et al. (1999) e modificado por KUSKOSKI et al. (2004). O radical ABTS^{•+} é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado o radical ABTS^{•+} foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorvância de 0,70 ($\pm 0,02$) a um comprimento de onda de 754 nm a uma temperatura de equilíbrio de 30°C. Absorvância foi medida em espectrofotômetro modelo (Hewlett-Packard 8425A), nos tempos 1, 4 e 7 minutos após a adição da amostra. Preparou-se curvas com soluções padrões de Trolox (antioxidante sintético similar a vitamina E) e vitamina C (ácido ascórbico). Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de amostra.

Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Desenvolvido por BRAND-WILLAMS et al., (1995) o método DPPH tem como base a redução da absorvância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH[•] por antioxidantes. Com modificações KIM et al., (2002) aplicam método com base na absorvância do radical de DPPH[•] 100 μM (3,9 mL) dissolvido em metanol a 80% no comprimento de onda de 517 nm. Ao adicionar 0,1 mL da amostra ou padrão, se homogeniza cuidadosamente e se mantém em local escuro, a

temperatura ambiente, por 30 minutos. A medida de absorvância é realizada no comprimento de onda de 517 nm, do radical antes de adicionar a amostra (A_0) e depois de adicionar amostra 30 e 60 minutos de reação (A_f). A concentração de DPPH^{*} no meio de reação se calcula conforme a curva de calibração obtida por regressão linear. Os resultados também são expressos em TEAC, Trolox ($\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de amostra).

2.7 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e todos os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Foram realizadas análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias, usando o programa *Statistica*[®] 6.0. Diferenças entre as medias no nível de 5% ($P < 0,05$) foram consideradas significantes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na determinação da composição do bagaço úmido, se encontram na **Tabela 1**. Pode-se observar que o conteúdo de proteínas e lipídios, permanece em quantidades consideráveis. A fibra bruta foi reduzida, considerando que na cerveja a maior fração seria da fibra solúvel (alimentar).

Tabela 1. Composição centesimal do bagaço úmido de cevada

Composição (% m/m)	Média \pm DP [*]
Umidade	76,29 \pm 0,21
Cinzas	0,77 \pm 0,02
Proteínas (N x 5,36)	4,20 \pm 0,18
Lipídios	1,87 \pm 0,12
Fibra Bruta	0,24 \pm 0,01
Carboidratos	16,62 \pm 0,24

*Base seca

Na extração seqüencial, do bagaço de brassagem úmido se observa que acetona foi o melhor solvente extrator, extraíndo 47,45 % do conteúdo total, em média de $54,48 \pm 7,87$ mg GAE/100g (**Tabela 2**), seguido do sistema aquoso $48,18 \pm$

1,08 mg GAE/100g (33,3%) e do solvente etanólico extraindo em média $12,15 \pm 1,03$ mg GAE/100g (21,9%).

São escassas as informações a respeito da determinação dos conteúdos totais de polifenóis no bagaço. As pesquisas normalmente estão centradas no grão ou na cerveja. MAILLARD et al., (1996) realizaram um estudo com diversas espécies de cevada, encontraram valores de compostos fenólicos que variam de 93 a 114 mg/100g de massa seca. Segundo KÄHKÖNEN et al., (1999) em cereais o conteúdo de compostos fenólicos pode variar de 20 a 130 mg GAE/100g, sendo que para o grão da cevada os mesmos autores encontraram 400mg GAE/100g de massa seca. Considerando que o bagaço de brassagem é resíduo da separação do mosto, do restante dos resíduos como casca, proteína, amido não convertido e outras substâncias impróprias para a boa formação do mosto e conseqüentemente da cerveja, foi elevado o conteúdo total de compostos fenólicos que ainda permaneceram no bagaço, em média 114,81 mg GAE/100g de bagaço úmido obtidos da soma dos três extratos resultantes da extração seqüencial.

Tabela 2. Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de extratos obtidos do bagaço úmido determinado pelo método ABTS.

Amostra	IPT (mg/100g)	TEAC ^a (μ Mol/100g)	TEAC ^b (μ Mol/100g)	TEAC ^c (μ Mol/100g)
BGUA01	$55,15 \pm 2,75$ a	$272,25 \pm 6,78$	$406,45 \pm 39,56$	$426,89 \pm 19,72$
BGUA02	$54,12 \pm 2,70$ a	$251,59 \pm 5,36$	$402,37 \pm 29,21$	$425,71 \pm 13,04$
BGUA03	$54,16 \pm 1,19$ a	$253,14 \pm 11,48$	$409,16 \pm 4,04$	$431,38 \pm 6,02$
BGUE01	$12,15 \pm 1,17$ c	$46,00 \pm 7,69$	$66,65 \pm 4,55$	$76,37 \pm 3,03$
BGUE02	$11,89 \pm 0,76$ c	$43,56 \pm 6,50$	$65,58 \pm 1,24$	$76,54 \pm 7,66$
BGUE03	$12,42 \pm 1,18$ c	$46,93 \pm 10,33$	$68,14 \pm 15,12$	$79,85 \pm 10,63$
BGUH01	$47,58 \pm 0,86$ b	$87,61 \pm 9,76$	$91,02 \pm 5,34$	$96,80 \pm 2,85$
BGUH02	$48,20 \pm 1,53$ b	$91,83 \pm 3,07$	$95,51 \pm 2,83$	$97,94 \pm 3,70$
BGUH03	$48,77 \pm 0,87$ b	$91,33 \pm 4,76$	$97,28 \pm 7,68$	$102,04 \pm 5,14$

BGUA: extrato obtido do bagaço úmido com acetona (lotes 01,02 e 03); BGUE: extrato obtido do bagaço úmido com etanol (lotes 01,02 e 03); BGUH: extrato obtido da bagaço úmido com água (lotes 01,02 e 03); ^aatividade antioxidante obtida em 1 min; ^batividade antioxidante obtida em 7 min; ^catividade antioxidante obtida em 10 min; Letras diferentes na mesma coluna implicam diferença significativa ($P < 0,05$) entre as amostras pelo Teste de Tukey.

Os resultados obtidos da atividade antioxidante do bagaço úmido, determinado pelo método ABTS, foram em média de $427,99 \mu$ Mol TEAC/100g de

extrato de acetona obtido dos três lotes, 98,92 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ do extrato aquoso e 77,58 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ do extrato etanólico, calculados no tempo 10 minutos de reação (**Tabela 2**).

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas a nível de 95% de confiança, entre os lotes 1, 2 e 3, para o conteúdo de fenólicos e valores de TEAC obtidos nas análises de atividade antioxidante (**Figura 1**).

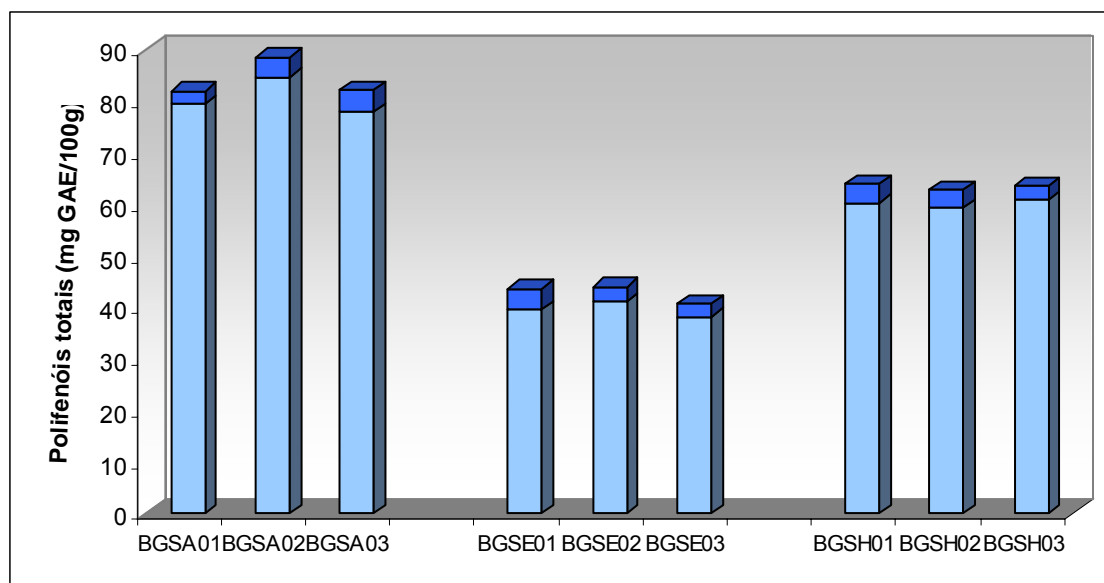


Figura 1. Representação gráfica dos compostos fenólicos totais obtidos por extração sequencial do bagaço de brassagem seco dos lotes 1, 2 e 3. BGSA: extrato obtido do bagaço seco com acetona (lotes 01, 02 e 03); BGSE: extrato obtido do bagaço seco com etanol (lotes 01, 02 e 03); BGS0: extrato obtido do bagaço seco com água (lotes 01, 02 e 03).

Considerando que o bagaço analisado era o mesmo resultante da brassagem, úmido, e que poderia sofrer mudanças ou seguir fermentando, submeteu-se parte das amostras ao processo de secagem, primeiro as enzimas foram inativadas a 80°C e em seguida prosseguiu-se a secagem das amostras de bagaço em estufa de ar circulante a 45°C e foram novamente analisadas após obtenção dos extratos. Os resultados do conteúdo de compostos fenólicos foram reprodutíveis, em relação ao processo de extração. A acetona prosseguiu apresentando-se como melhor solvente extrator, extraíndo 44,7 % do conteúdo total, uma média $80,73 \pm 3,54$ mg GAE /100g de amostra (**Tabela 3**) dos três lotes, seguido do sistema aquoso que extraiu em média $60,15 \pm 2,73$ mg GAE/100g de amostra (33,3%) e no sistema etanólico extraiu em média $39,7 \pm 3,17$ mg GAE/100g de amostra (21,9%). Não foram observadas diferenças estatísticas significativas a nível de 95% de confiança, entre os lotes 1, 2

e 3, tanto para o conteúdo de compostos fenólicos como no valor TEAC obtido as análises de atividade antioxidante.

Os resultados obtidos da atividade antioxidante do bagaço seco, determinadas pelo método ABTS, foram em média de 680,81 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de MS de extrato de acetona obtido dos três lotes, 286,71 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de MS do extrato aquoso e 167,26 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de MS do extrato etanólico calculados no tempo de 10 minutos de reação (**Tabela 3**).

Tabela 3. Índice de polifenóis totais e atividade antioxidante de extratos obtidos do bagaço seco determinado pelo método ABTS.

Amostra	IPT ^a (mg/100g)	TEAC ^a ($\mu\text{Mol}/100\text{g}$)	TEAC ^b ($\mu\text{Mol}/100\text{g}$)	TEAC ^c ($\mu\text{Mol}/100\text{g}$)
BGSA01	79,59 \pm 2,48	498,32 \pm 26,40	611,11 \pm 17,07	678,54 \pm 12,76
BGSA02	84,74 \pm 3,92	481,97 \pm 20,58	606,46 \pm 9,28	694,47 \pm 15,04
BGSA03	77,86 \pm 4,24	477,92 \pm 18,61	610,40 \pm 0,62	669,42 \pm 21,05
BGSE01	39,69 \pm 3,85	102,20 \pm 2,15	158,01 \pm 37,04	165,63 \pm 35,07
BGSE02	41,23 \pm 2,78	100,41 \pm 12,05	155,00 \pm 6,57	170,84 \pm 24,07
BGSE03	38,18 \pm 1,55	104,91 \pm 3,78	157,83 \pm 16,62	165,36 \pm 20,27
BGSH01	60,28 \pm 4,24	209,58 \pm 3,78	284,93 \pm 13,61	383,27 \pm 8,61
BGSH02	59,25 \pm 2,51	214,39 \pm 9,57	280,20 \pm 22,27	335,42 \pm 43,51
BGSH03	60,91 \pm 2,75	211,43 \pm 3,94	295,02 \pm 3,29	386,67 \pm 19,75

BGSA: extrato obtido do bagaço seco da cevada com acetona (lotes 01,02 e 03); BGSE: extrato obtido do bagaço seco da cevada com etanol (lotes 01,02 e 03); BGSH: extrato obtido do bagaço seco da cevada com água (lotes 01,02 e 03); ^a atividade antioxidante obtida em 1 min; ^b atividade antioxidante obtida em 7 min; ^c atividade antioxidante obtida em 10 min;

As amostras de bagaço que foram submetidas à secagem, apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos, quando comparado com o bagaço úmido, assim como maior valor TEAC, determinado pelo método ABTS, conforme se pode observar na **Figura 2**. O bagaço seco e o úmido apresentaram diferenças significativas a nível de 95% de confiança. Segundo MAILLARD et al., (1996) estes resultados pode ser devido à baixa extração de compostos fenólicos, por causa da elevada umidade desta amostra. Esta inibição da enzima pode ser explicada por um aumento de compostos fenólicos livres, porque segundo MAILLARD et al., (1996) os

produtos da reação Maillard não mostram efeito no método da lipoxigenase e não teriam atividade antioxidante.

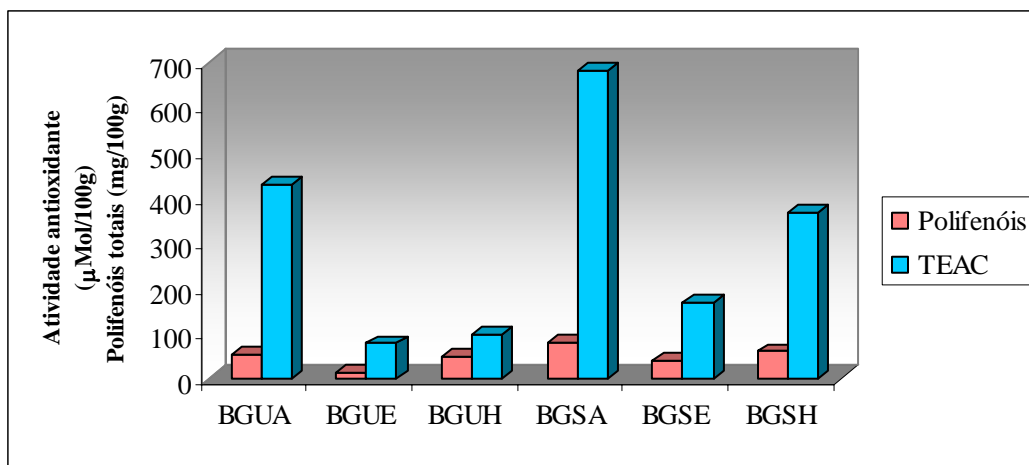


Figura 2. Polifenóis e atividade antioxidante (ABTS), no tempo de 1 minuto, dos extratos úmido e seco do bagaço de brassagem obtidos com extração seqüencial (média dos lotes 01, 02 e 03). BGUA: extrato obtido do bagaço úmido com acetona; BGUE: extrato obtido do bagaço úmido com etanol; BGUH: extrato obtido do bagaço úmido com água; BGSA: extrato obtido do bagaço seco com acetona; BGSE: extrato obtido do bagaço seco com etanol; BGSB: extrato obtido do bagaço seco com água.

Os compostos fenólicos como antioxidantes são excelentes doadores de hidrogênio ou elétrons. O coeficiente de correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de polifenóis totais nas amostras de bagaço seco pesquisada, foi de r^2 0,90. ZIELINSKI e KOZLOWSKA (2000) encontraram coeficiente de correlação r^2 0,80. Observou-se que para amostras de bagaço seco o coeficiente de correlação foi maior enquanto que para as amostras de bagaço úmido o coeficiente de correlação foi de r^2 0,57 (**Figura 3**).

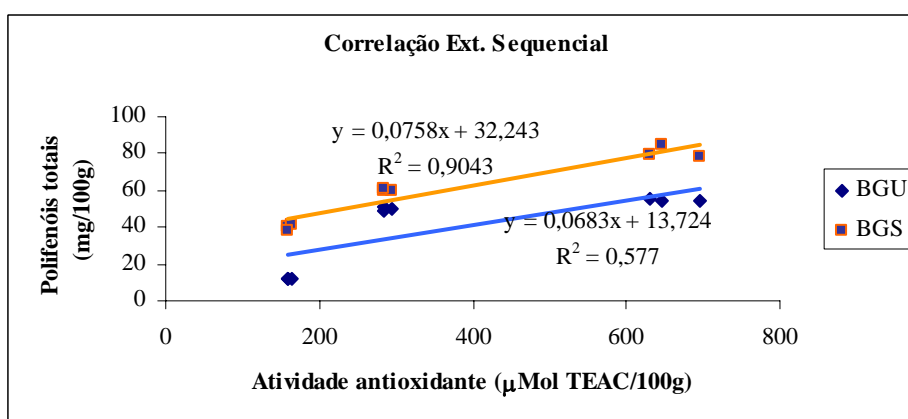


Figura 3. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos obtidos de bagaço de brassagem (úmido e seco) pela extração seqüencial e atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.

Na extração seqüencial, a acetona foi o solvente que apresentou melhores resultados, seguido da extração em meio aquoso. Segundo YILMAZ et al., (2006) etanol e água deionizada como solventes isolados foram ineficazes para extrair compostos fenólicos. Como acetona e água apresentaram-se como melhores solventes, realizou-se a extração com acetona com diferentes proporções de água deionizada (**Tabela 4**).

O conteúdo total de polifenóis extraído de 122,64 mg GAE/100g de MS foi obtido com acetona a 70% do bagaço seco e do bagaço úmido se obteve 69,58 mg GAE/100g. Na extração seqüencial os valores obtidos são superiores, possivelmente pelo fato de que após cada extração os resíduos secos em estufa, e a temperatura atuava, ajudando a obtenção de mais compostos fenólicos livres e conseqüentemente extraíveis. O conteúdo de flavanóis também foi maior no bagaço seco e extraído com acetona 70%, obteve-se 10,41 mg/100g de MS e 6,66 mg/100g de bagaço úmido.

Tabela 4. Índice de polifenóis totais (IPT), flavanóis e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) de extratos obtidos do bagaço seco e úmido com acetona a distintas concentrações.

Amostras	IPT (mg/100g)	Flavanóis (mg/100g)	ABTS - TEAC ^a (μ Mol/100g)	DPPH - TEAC ^b (μ Mol/100g)
BGSA 30%	76,57 \pm 3,43	5,60 \pm 0,16	494,14 \pm 26,02	275,08 \pm 14,98
BGSA 50%	107,27 \pm 3,46	9,90 \pm 0,07	555,87 \pm 12,04	422,71 \pm 12,00
BGSA 70%	122,64 \pm 4,24	10,41 \pm 0,10	580,36 \pm 9,12	496,59 \pm 15,11
BGSA 100%	80,73 \pm 2,47	9,39 \pm 0,14	475,89 \pm 24,02	345,36 \pm 10,52
BGUA 30%	48,50 \pm 2,87	3,48 \pm 0,08	239,54 \pm 6,96	152,07 \pm 16,01
BGUA 50%	54,04 \pm 2,79	5,87 \pm 0,07	322,60 \pm 6,31	273,95 \pm 9,72
BGUA 70%	69,58 \pm 2,31	6,66 \pm 0,15	374,82 \pm 11,24	297,18 \pm 18,37
BGUA 100%	54,77 \pm 2,75	5,47 \pm 0,10	328,28 \pm 24,09	178,04 \pm 2,92

BGSA: extrato Bagaço Seco obtido com acetona nas concentrações 30%, 50%, 70 % e 100% (v/v); BGUA: extrato Bagaço úmido obtido com acetona nas concentrações 30%, 50%, 70 % e 100% (v/v). ^a atividade antioxidante obtida em 7 min; ^b atividade antioxidante obtida em 60 min;

O coeficiente de correlação entre a atividade antioxidante e o conteúdo de polifenóis totais nas amostras de bagaço foi de $R^2 = 0,58$ para bagaço úmido, para o

bagaço submetido à secagem foi de R^2 0,94, apresentando maior correlação que os valores obtidos para as extrações obtidas no sistema seqüencial ($R^2=0,90$), demonstrando assim que a acetona com diferentes proporções de água, extrai mais polifenóis que estão correlacionados à atividade antioxidante (**Figura 4**).

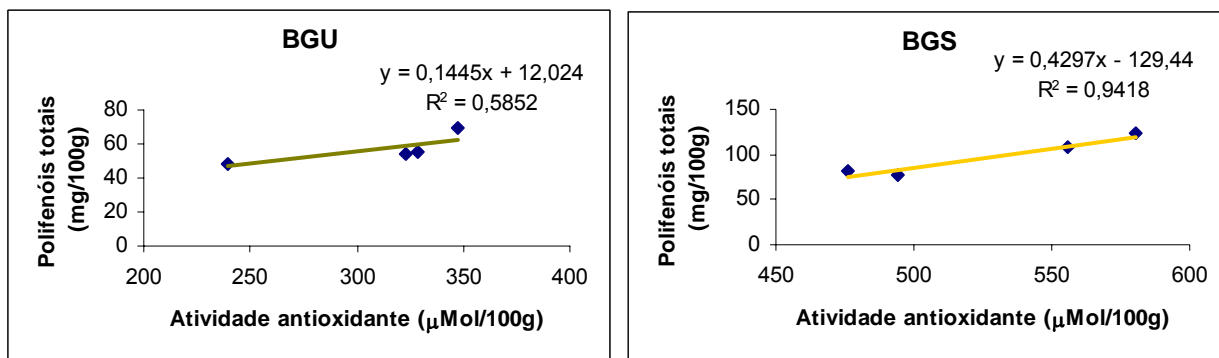


Figura 4. Correlação entre o índice de polifenóis totais dos extratos obtidos do bagaço de brassagem úmido (BGU) e seco (BGS) com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS.

Os resultados da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH são menores, variando de 152,07 a 297,18 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ nas amostras de bagaço úmido e no bagaço seco 275,08 a 496,59 $\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ medidos em 60 minutos. Observa-se o extrato obtido com acetona 70% foi o melhor solvente extrator, e foi diferente estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais extratos. Enquanto que os extratos obtidos com acetona 50% e 100% não apresentaram diferenças significativas.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que o bagaço da cevada é um resíduo que apresenta valor nutritivo e terapêutico se bem aproveitado. Considerável conteúdo total de compostos fenólicos permaneceu no bagaço, determinados tanto pelo método de extração direta como seqüencial. O bagaço seco apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos, e isto pode ser devido ao efeito da temperatura, deixando os ácidos fenólicos livres. Na extração direta a acetona 70% apresentou ser o melhor solvente aplicado para extrair os compostos fenólicos. Os resultados de atividade antioxidante foram elevados tanto para determinação pelo método ABTS como DPPH, embora o método ABTS tenha apresentado maiores valores. Os coeficientes de correlação entre conteúdo de compostos fenólicos e atividade

antioxidante foram maiores no bagaço seco, tanto para amostras extraídas pelo método seqüencial ou método direto.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, e a microcervejaria: Cervejaria da Ilha - Chopp Ilhéu[®], Florianópolis – S/C, pelo fornecimento das amostras de Bagaço de brassagem, para realização deste estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC International, 18th edition, Arlington, VA. 2005.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.** v.22, p. 25-30. 1995.

CORRÊA, R. P.; VALDUGA, E. **Aproveitamento do Resíduo da Indústria de Cerveja (Bagaço de Malte) para a produção de Biscoitos Tipo “Gressinis”**. Curso de Engenharia de Alimentos. URI, Erechim-RS, 2002.

DELOS, G. **Beers of the world**. London: Tiger Books International PLC, 1994.

FARIA, M. S. **CEVADA – Bagaço de Cevada pode ser usado o ano todo**. 2003. Disponível em: <<http://.internetoffice.com.br/cooper/revista/2003fevereiro/orientação.html>>. Acesso em: Jan. 2006.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; HAUHA, J. P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plants extracts containing phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p. 3954-3962, 1999.

KALNIN, J. L. **Avaliação estratégica para a implantação de pequenas cervejarias**. 1999. 126f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção e Sistemas), Curso de Pós-graduação em Engenharia de Produção e Sistemas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis, 1999.

KIM, D-O.; LEE, K.W.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Vitamina C equivalente antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713-3717, 2002.

KUNZE, W. **Technology brewing and malting**. Berlim: VLB, 1997.

KUSKOSKI, E. M. **Caracterización de pigmentos en frutos de baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg)**. 2003. 230f. Tese (Doutorado – Faculdade de Farmácia), Universidade de Sevilla, Sevilla.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARILLA, M. C.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.4, 2004, p. 691-693.

MATAIX, J. La Cerveza, Tradición y Cultura Mediterrânea. **Cerveza e Salud**, v. 161, p. 41-44, 2004.

MAILLARD, M.-N.; SOUM, M.-H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **Lebensm. Wiss. Technol**, v.29, p. 238-244, 1996.

MARTÍNEZ, J. R. El consumo moderado de cerveza en una dieta sana e equilibrada puede reducir el risco cardiovascular. **Cerveza e Salud**, v. 162, p. 65-68, 2004.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade Antioxidante das Especiarias Mostarda, Canela e Erva-doce em Sistemas Aquoso e Lipídico. **Nutrire – Rev. Soc. Brás. Alim. Nutr. - Journal. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, v. 25, p. 44-45, 2003.

MORETTO, E.; FETT, R.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L. V. **Introdução a Ciência de Alimentos**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2002, 255p.

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 Biological Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REINOLD, M. Tecnologia Cervejeira. **Cervesia**. Ano 1, n.12, ed. Abr. 2003.

ROSSI, J. A. Jr.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enol. Vitic.** v. 16, p. 144-158, 1965.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19. p. 41-48. 2006.

ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, 2008-2016, 2000.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DE CERVEJAS APLICANDO OS MÉTODOS ABTS e DPPH

AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE DE CERVEJAS APLICANDO OS MÉTODOS ABTS E DPPH

Resumo

A cerveja é uma bebida de baixa graduação alcoólica resultante da fermentação de uma levedura selecionada em um mosto, procedente do malte de cevada, trigo ou outros produtos amiláceo transformáveis em açúcares por digestão enzimática cozimento e aromatizada com flores de lúpulo. A composição da cerveja, se destaca pela presença principalmente de vitaminas, proteínas e compostos fenólicos. Os compostos fenólicos são os grupos de compostos de especial interesse na cerveja, por serem responsáveis por diversas propriedades funcionais. Desde a estabilidade coloidal da cerveja, como também suas características sensoriais (cor, aroma e sabor), nutricionais e terapêuticas. O objetivo deste trabalho foi determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais e flavanóis em diversos tipos de cervejas comercializadas no Brasil, e determinar a capacidade antioxidante *in vitro* realizada por dois métodos, o radical ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin 6-sulfônico) e o radical DPPH[•] (2,2- Difenil-1-picrilhidrazilo). Para determinar os polifenóis totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu e o método DMACA para os flavanóis. Os conteúdos fenólicos nas cervejas analisadas podem variar de 249,73 (\pm 8,44) a 808,58 (\pm 7,42) mg/L, em ordem crescente, a cerveja escura de trigo apresenta os maiores valores de polifenóis totais, seguida das cervejas escura de cevada, as cervejas claras de trigo e clara de cevada. Elevados valores de atividade antioxidantes foram determinados pelo método ABTS, de 1048,62 (\pm 26,37) a 3957,97 (\pm 29,68) μ Mol TEAC/L e pelo método DPPH, de 1051,98 (\pm 63,76) a 3015,29 (\pm 44,02) μ Mol TEAC/L. As cervejas analisadas podem ser fontes de compostos fenólicos aos quais se atribui à atividade antioxidante determinada.

Palavras-chave: cervejas, atividade antioxidante, compostos fenólicos

1. INTRODUÇÃO

A Cerveja é uma bebida milenar originária da cultura Mediterrânea clássica, vinculada desde a antiguidade com fins terapêuticos. As primeiras referências históricas existem já há 6.000 anos, e demonstram que a cerveja por ser uma bebida fermentada, era consumida pela civilização com o objetivo de evitar enfermidades infecciosas adquiridas ao beber água não higienizada (MATAIX, 2004; SERRA, 2002).

Produzida da fermentação alcoólica do mosto de cereal malteado, geralmente malte de cevada, sendo facultativa a adição de outra matéria-prima amilácea ou de lúpulo, e em geral o teor alcoólico é baixo, de 3 a 8%. Sob esta designação podem se encontrar os mais diversos tipos de cerveja, obtidos por processos que vão da fabricação caseira a cerveja de processamento industrial. (AQUARONE et al., 1983; MARTINEZ, 2004).

O processo de fermentação da cerveja é considerado complexo devido ao número de produtos que são originados, alguns de reações químicas, outros de atividade microbiana. Entre estes últimos predominam o etanol e o gás carbônico, além do glicerol, ácido acético e álcoois superiores (GONZALEZ SAN JOSÉ et al., 2002; SERRA, 2002). A cerveja elaborada a partir de cevada e lúpulo, fornece ao organismo grande quantidade de vitaminas, especialmente do tipo B, minerais e outras substâncias com propriedades funcionais e não contém gorduras, por isso que seu consumo moderado pode incluir-se em qualquer dieta equilibrada (MARTINEZ, 2004).

O equilíbrio de compostos voláteis e não-voláteis é responsável pela aceitação e qualidade da cerveja. A composição em ésteres, aldeídos, dicetonas vicinais, ácidos orgânicos, álcoois superiores, fenóis, iso- α -ácidos e outros compostos está diretamente relacionada com a qualidade da cerveja. (ARAÚJO et al., 2003). Segundo FANTOZZI et al., (1998) a cerveja pode conter moléculas com potencial antioxidante como também micronutrientes que ativam a superóxido dismutase e a glutatona peroxidase, enzimas que contribuem potencialmente à atividade de antioxidante global *in vivo*.

Diversos estudos demonstram uma diminuição na incidência de doenças cardiovasculares e câncer, entre outras patologias, em países do sul da Europa, que possuem uma dieta mediterrânea, comparados aos países nórdicos (BELLEVILLE,

2002). Moderado consumo de bebidas alcoólicas, em particular o vinho e a cerveja, estão associadas a diminuição de mortalidades causadas por doenças cardiovasculares (GRONBAEK et al., 1995). Álcool (em baixas doses) e os compostos fenólicos têm papel importante na proteção da agregação plaquetária, além do mais o etanol tem efeito direto nas plaquetas, no metabolismo HDL e na fibrinólise, e apresenta papel importante na absorção de compostos fenólicos (GUISELLI et al., 2000).

Os fenólicos são compostos aromáticos, hidrossolúveis, e facilmente solúveis em etanol, o aumento de solubilidade destes compostos em soluções hidroalcoólicas pode afetar a concentração e à proporção que são absorvidos (RICE-EVANS et al., 1997). GUISELLI et al., (2000) determinaram que na absorção de fenólicos, a cerveja com álcool transferiu mais eficazmente compostos fenólicos para fluidos de corpo humano do que a cerveja sem álcool.

Do ponto de vista nutricional, a cerveja contém mais proteínas e vitaminas (do tipo B) que o vinho. A atividade antioxidante da cerveja pode ser similar ao do vinho, embora os antioxidantes específicos presentes na cevada e no lúpulo sejam distintos dos encontrados na uva (DENKE 2000). Os polifenóis presentes na cerveja são principalmente ácidos fenólicos (ácido ferúlico, ácido gálico e sirínico), flavanóides (flavanóis, antocianinas e flavonóis), também contém compostos mais complexos como os taninos (procianidinas). Segundo GORINSTEIN et al. (2000), o conteúdo de procianidinas, epicatequinas e ácido ferúlico são estatisticamente maiores na cerveja que no vinho branco.

Os compostos fenólicos têm papel importante nas características sensoriais da cerveja, como também contribuem no sabor, adstringência, cor e aroma, além de serem responsáveis pela turbidez, por interações com as proteínas e os polissacarídeos presentes na cerveja (GONZÁLEZ SAN JOSÉ et al., 2002).

O principal objetivo deste trabalho foi determinar os compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro* (métodos químicos) de cervejas brasileiras. Avaliar e comparar as análises de amostras de cerveja elaboradas de diferentes matérias primas: cevada, trigo e cervejas sem adição de antioxidantes. Assim como, correlacionar à atividade antioxidante das cervejas encontrada com seu conteúdo de polifenóis totais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras

Algumas amostras de cerveja provenientes de mercados de consumo no Brasil foram adquiridas aleatoriamente em Florianópolis (SC), e outras foram adquiridas através de uma empresa de Blumenau (SC). Entre as amostras analisadas: 2 cervejas de trigo escura, 1 cerveja de trigo clara, 4 cervejas de cevada escura, 4 cervejas de cevada clara, 2 cervejas de cevada âmbar, 1 cerveja orgânica de cevada clara. As amostras de cerveja foram desgaseificadas, e armazenadas em frasco âmbar a -18°C até as posteriores análises, que foram imediatas. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu (ROSSI, 1965). Os resultados foram representados utilizando ácido gálico como padrão, preparou-se uma curva e os resultados foram calculados e representados graficamente, utilizando o gradiente concentração em função da absorvância. Os resultados foram expressos em mg ácido gálico/L de amostra.

2.3 Determinação de flavanóis

A determinação de flavanóis foi realizada aplicando-se o método DMACA (*p*-dimetilaminocinmaldeído), descrito por ARNOUS; MAKRIS y KEFALAS, 2002. A concentração total de flavanóis foi estimada conforme a curva de calibração, preparada com solução de catequina (1-16 mg de catequina/L). Os resultados foram expressos em equivalente a mg catequina/100g de amostra.

2.4 Determinação da atividade antioxidante

Método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico)

O método ABTS utilizado, foi o método descrito por RE et al. (1999) e modificado por KUSKOSKI et al. (2004). O radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ é formado por uma reação química com persulfato de potássio em uma relação estequiométrica de 1:0,5. Uma vez formado o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ foi diluído em etanol até obter-se uma medida de absorvância de 0,70 ($\pm 0,02$) a um comprimento de onda de 754 nm a uma temperatura de equilíbrio de

30°C. Absorbância foi medida em espectrofotômetro modelo (Hewlett-Packard 8425A), nos tempos 1, 4 e 7 minutos após a adição da amostra. Preparou-se curvas com soluções padrões de Trolox (antioxidante sintético similar a vitamina E) e vitamina C (ácido ascórbico). Os resultados foram expressos em TEAC, atividade antioxidante equivalente ao Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) em $\mu\text{mol TEAC/L}$ de amostra.

Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Desenvolvido por BRAND-WILLAMS et al., (1995) o método DPPH tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH[•] por antioxidantes. Com modificações KIM et al., (2002) aplicam método com base na absorbância do radical de DPPH[•] 100 μM (3,9 mL) dissolvido em metanol a 80% no comprimento de onda de 517 nm. Ao adicionar 0,1 mL da amostra ou padrão, se homogeniza cuidadosamente e se mantém em local escuro, a temperatura ambiente, por 30 minutos. A medida de absorbância do radical é realizada no comprimento de onda de 517 nm. A concentração de DPPH[•] no meio de reação se calcula conforme a curva de calibração obtida por regressão linear. Os resultados também são expressos em TEAC, Trolox ($\mu\text{Mol TEAC}/100\text{g}$ de amostra).

Aplicação do método preconiza medir a capacidade antioxidante passado 30 minutos de reação, para assegurar de que a reação fosse medida por completo e que a amostra seria estável, foram realizadas medidas no tempo de 60 minutos. A concentração de DPPH[•] no meio de reação se calcula conforme a curva de calibração obtida por regressão linear. Os resultados também são expressos em TEAC, Trolox ($\mu\text{mol TEAC}/\text{L}$ de amostra).

2.7 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e todos os resultados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Foram realizadas análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias, usando o programa *Statistica*[®] 6.0. Diferenças entre as medias no nível de 5% ($P < 0,05$) foram consideradas significantes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O consumo de cerveja está registrado em data anteriores a 4000 A.C (PEPPER, 1997). Um consumo moderado e constante de cerveja pode ser fonte de compostos fenólicos ao ser humano. Os compostos fenólicos determinados neste estudo estão representados na **Tabela 1**, e podem variar de 249,73 (\pm 8,44) a 808,58 (\pm 7,42) mg/L em consequência do tipo de cerveja. Observa-se que a cerveja escura de trigo, apresenta os maiores valores de polifenóis totais, e não diferem estatisticamente entre si (CVT e CVB) mesmo mudando de marca comercial. Em seguida as cervejas com maior conteúdo de polifenóis são as cervejas escuras de cevada, as cervejas claras de trigo e as cervejas claras de cevada.

Tabela 1. Índice de polifenóis totais (IPT) e atividade antioxidante (ABTS) de diversos tipos de cervejas.

Amostras	IPT (mg/L)	ABTS - TEAC ^a (μ Mol/L)	ABTS - TEAC ^b (μ Mol/L)	ABTS - TEAC ^c (μ Mol/L)
CVS	249,73 \pm 8,44 a	581,72 \pm 27,36	911,79 \pm 22,09	1048,62 \pm 26,37
CVP	406,34 \pm 5,01 b,c	1782,47 \pm 81,0	2693,04 \pm 82,3	3010,68 \pm 128,87
CVN	535,67 \pm 6,28 h	2026,90 \pm 51,11	2846,87 \pm 113,55	3234,39 \pm 114,46
CVK	431,44 \pm 3,53 d,e	1736,26 \pm 62,45	2670,70 \pm 118,71	3007,94 \pm 83,22
CVO	435,99 \pm 3,22 e,f	1846,99 \pm 18,44	2617,03 \pm 45,46	3012,87 \pm 54,04
CVA	429,35 \pm 6,22 c,d	1779,85 \pm 46,28	2492,93 \pm 56,26	2840,12 \pm 109,01
CVR	727,67 \pm 4,17 k	2684,54 \pm 8,93	3522,78 \pm 14,46	3957,97 \pm 29,68
CVD	687,06 \pm 5,08 j	2384,53 \pm 46,08	2892,30 \pm 117,35	3317,64 \pm 52,96
CVE	440,06 \pm 2,39 e,f	1276,82 \pm 43,18	1585,68 \pm 47,47	1802,23 \pm 4,94
CVH	458,70 \pm 1,20 f,g	1475,19 \pm 5,93	1706,19 \pm 2,97	1939,29 \pm 2,97
CVL	636,23 \pm 7,49 i	1393,90 \pm 24,72	1928,87 \pm 39,56	2273,27 \pm 32,14
CVW	402,58 \pm 3,37 b	2012,25 \pm 30,44	2829,89 \pm 153,8	3294,91 \pm 172,68
CVB	791,54 \pm 18,0 l	2978,21 \pm 35,52	3857,66 \pm 60,71	4290,77 \pm 61,92
CVT	808,58 \pm 7,42 l	2854,04 \pm 22,75	3187,96 \pm 45,00	3607,54 \pm 45,00

CVS: cerveja de cevada clara; CVP: cerveja de cevada clara; CVN: cerveja de cevada clara; CVK: cerveja de cevada clara; CVO: cerveja orgânica de cevada clara; CVA: cerveja de cevada âmbar; CVR: cerveja de cevada âmbar; CVD: cerveja de cevada escura; CVE: cerveja de cevada escura; CVH: cerveja de cevada escura; CVL: cerveja de cevada escura; CVW: cerveja de trigo clara; CVB: cerveja de trigo escura; CVT: cerveja de trigo escura. ^aatividade antioxidante obtida em 1 min; ^batividade antioxidante obtida em 4 min; ^catividade antioxidante obtida em 7 min. Valores com letra igual não apresentam diferenças estatisticamente significativas para $P = 0,05$.

Em um estudo com cervejas enriquecidas com fibra dietética (solúvel), SAURA et al. (2003) determinam os compostos fenólicos de cervejas espanholas. Em cervejas normais (sem ser enriquecidas), estes autores encontraram valores de polifenóis para a cerveja clara de cevada de 336 ± 8 mg/L e para cerveja escura de cevada de 570 ± 10 mg/L. Comparadas com as cervejas brasileiras analisadas neste trabalho, encontramos uma média de $425,77 \pm 13,3$ mg/L para as cervejas claras de cevada e de $683,65 \pm 45,8$ mg/L para as cervejas escuras de cevada. Observa-se que neste trabalho obtivemos melhores resultados tanto para as cervejas claras de cevada como as cervejas escuras de cevada.

Os resultados obtidos da atividade antioxidante, determinadas pelo método ABTS medidas no tempo de 7 minutos, foram em média de 2580,07 μ Mol TEAC/L para as cervejas claras de cevada, enquanto que para a cerveja escura de cevada encontramos 2691,98 μ Mol/L e valores de 3933,24 μ Mol/L para as cervejas escuras de trigo.

Elevados valores foram encontrados neste trabalho para cerveja clara de cevada se comparado com resultado de outras cervejas. PELLEGRINI et al., (2003) realizaram uma pesquisa sobre a capacidade antioxidante de diversas bebidas, plantas e azeites de consumo na Itália e encontraram valores 1040 μ Mol TEAC/L em cervejas italianas (cervejas claras de cevada), aplicando método ABTS e gerando radical com persulfato de potássio.

Análise estatística das amostras medidas da atividade antioxidante pelo método ABTS em 1, 4 e 7 minutos, a nível de 95% de confiança ($P < 0,05$) demonstrou que as medidas obtidas em 1 minuto apresentam diferença estatística enquanto que as amostras obtidas nos tempos 4 e 7 não apresentam diferenças significativas (**Figura 1**).

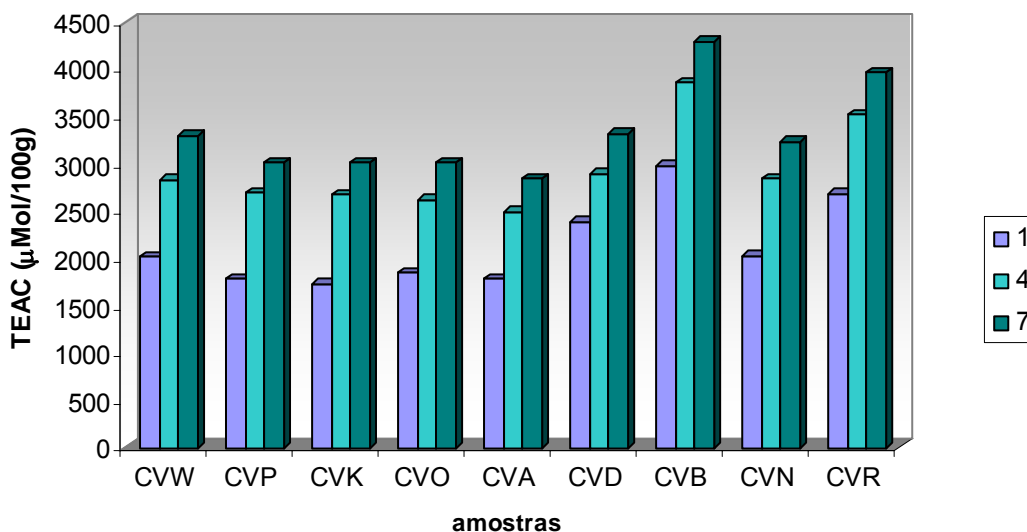


Figura 1. Atividade antioxidante determinada pelo método ABTS de cervejas nos tempos 1, 4 e 7 minutos. CVW: cerveja de trigo clara; CVP: cerveja de cevada clara; CVK: cerveja de cevada clara; CVO: cerveja orgânica de cevada clara; CVA: cerveja de cevada âmbar; CVD: cerveja de cevada escura; CVB: cerveja de trigo escura; CVN: cerveja de cevada clara; CVR: cerveja de cevada âmbar;

Os resultados obtidos na determinação de compostos fenólicos totais estão correlacionados com a atividade antioxidante (ABTS) como se pode observar na **Figura 2.**

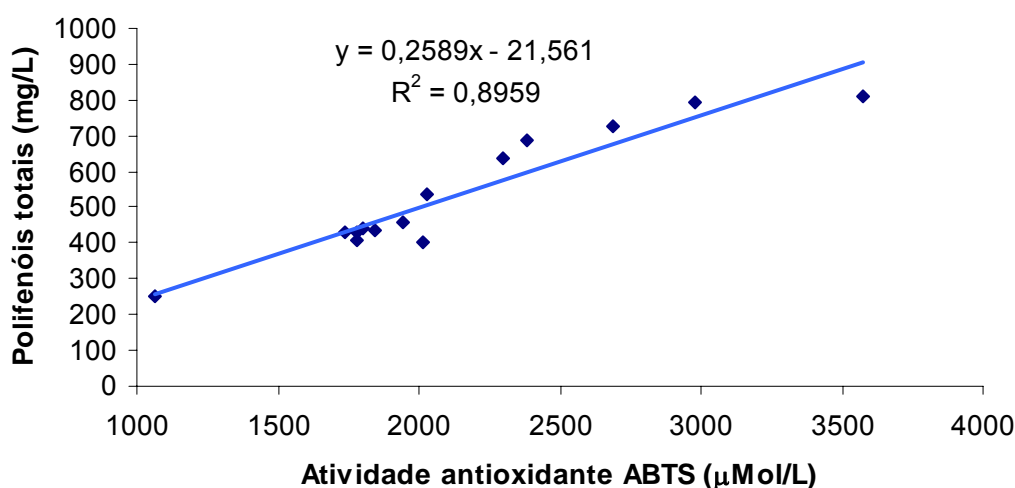


Figura 2. Correlação entre o índice de polifenóis totais com atividade antioxidante determinada pelo método ABTS das cervejas.

Os resultados médios obtidos aplicando método DPPH para determinar a atividade antioxidante de 9 tipos de cervejas (Tabela 2), foram de 1364,48 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ de cervejas claras de trigo, de 1370,14 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ para as cervejas claras de cevada, seguidos de 1991,50 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ obtidos da cerveja escuras de cevada e de 3015,29 $\mu\text{Mol TEAC/L}$ para as cervejas escuras de trigo, todos medidos no tempo de 60 minutos.

Tabela 2. Flavanóis e atividade antioxidante (DPPH) de extratos obtidos de cervejas.

Amostras	Flavanóis (mg/L)	DPPH - TEAC ^a ($\mu\text{Mol/L}$)	DPPH - TEAC ^b ($\mu\text{Mol/L}$)
CVP	2,67 \pm 0,12	1144,01 \pm 31,42	1311,47 \pm 11,77
CVN	2,41 \pm 0,09	1495,45 \pm 159,28	1583,56 \pm 95,70
CVK	1,91 \pm 0,04	1034,26 \pm 11,92	1331,24 \pm 63,08
CVO	1,93 \pm 0,07	1014,30 \pm 30,19	1254,30 \pm 35,25
CVA	2,14 \pm 0,04	855,08 \pm 42,12	1051,98 \pm 63,76
CVR	4,66 \pm 0,05	2088,23 \pm 12,21	2300,63 \pm 9,46
CVD	4,51 \pm 0,12	2417,54 \pm 159,36	2621,91 \pm 72,17
CVW	2,79 \pm 0,08	1124,97 \pm 67,22	1364,48 \pm 65,95
CVB	5,09 \pm 0,08	2815,22 \pm 149,16	3015,29 \pm 44,02

CVP: cerveja de cevada clara; CVN: cerveja de cevada clara; CVK: cerveja de cevada clara; CVO: cerveja orgânica de cevada clara; CVA: cerveja de cevada âmbar; CVR: cerveja de cevada âmbar; CVD: cerveja de cevada escura; CVW: cerveja de trigo clara; CVB: cerveja de trigo escura; ^a atividade antioxidante obtida em 30 min; ^b atividade antioxidante obtida em 60 min.

Observou-se que o tempo de 30 minutos foi suficiente para medir a reação, que amostra foi estável, e que não houve diferença estatisticamente significativa a nível de 95% de confiança (**Figura 3**).

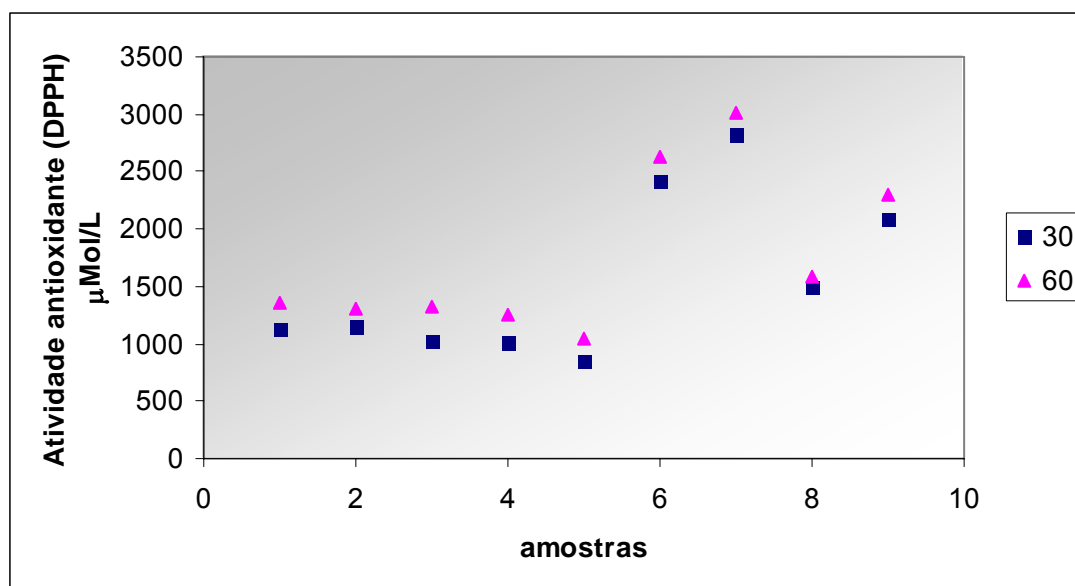


Figura 3. Atividade antioxidante determinada pelo método DPPH de cervejas, nos tempos 30 e 60 minutos. CVW: cerveja de trigo clara; CVP: cerveja de cevada clara; CVK: cerveja de cevada clara; CVO: cerveja orgânica de cevada clara; CVA: cerveja de cevada âmbar; CVD: cerveja de cevada escura; CVB: cerveja de trigo escura; CVN: cerveja de cevada clara; CVR: cerveja de cevada âmbar.

O conteúdo de flavanóis, também foi determinado nestes lotes de cervejas, e se obteve em média valores de 2,79 mg/L nas cervejas clara de trigo, de 2,23 mg/L para as cervejas clara de cevada, seguidos de 3,77 mg/L obtidos das cervejas escura de cevada e de 5,09 mg/L para as cervejas escura de trigo (**Tabela 2**).

Observa-se que o método DPPH (**Tabela 2**) apresenta valores TEAC inferior aos valores obtidos com método ABTS (**Tabela 1**), no entanto, o coeficiente de correlação dado pelo método DPPH (r^2 0,9229) (**Figura 4**) é maior que o obtido com método ABTS (r^2 0,8959) (**Figura 3**) indicando melhor relação ao conteúdo de compostos fenólicos que o método ABTS, este fato pode ser justificado pelo tipo de radical e tempo de medida de reação que se obtém entre estes dois métodos.

Os métodos químicos de determinação da atividade antioxidante são geralmente baseados na captura de radicais livres ou na avaliação da sua capacidade redutora, e oferecem informações muito diversas dos métodos com base em medidas biológicas ou que avaliam a atividade antioxidante específica, no entanto, as informações obtidas em ambos os métodos são complementares. De fato, os métodos químicos, permitem obter boas correlações entre a atividade antioxidante e meia vida dos produtos, e normalmente são os ensaios preliminares,

no entanto somente permite aproximações a seus efeitos protetores a saúde (GONZALEZ SAN JOSÉ et al, 2002).

Além do mais, a atividade antioxidante é dependente de vários fatores, incluído as propriedades coloidais dos substratos, das condições e etapas de oxidação, da formação e estabilidade dos radicais, assim como da possível localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento nos alimentos.

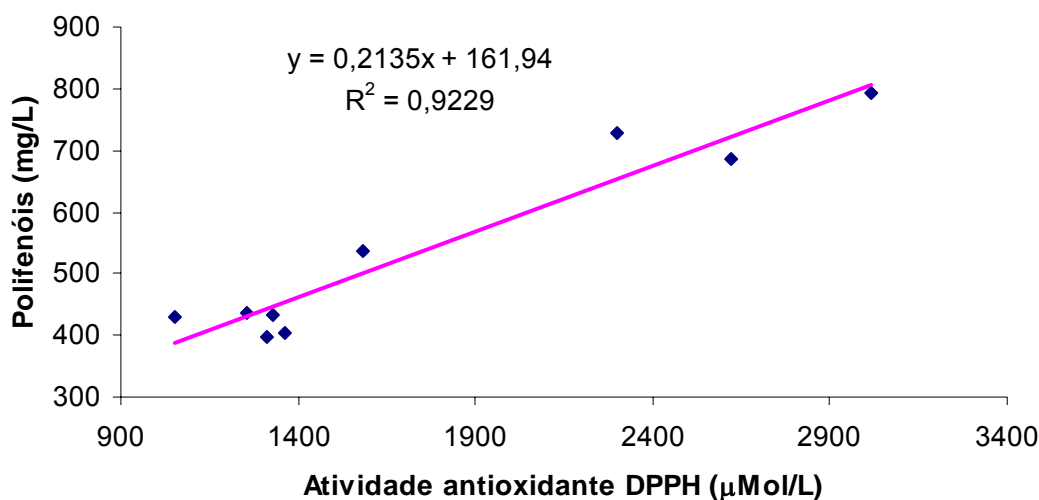


Figura 4. Correlação entre o índice de polifenóis totais com atividade antioxidante determinada pelo método DPPH das cervejas.

Diversos estudos relativos à atividade antioxidante da cerveja, tem correlacionado esta propriedade com a composição da cerveja (MAILLARD et al., 1996; GOUPY et al., 1999; BRIGHT et al., 1999), em que a reação de Maillard forma produtos do malte (MAILLARD et al, 1996) ou produtos resultantes da ebulição. Com relação ao produto final, GHISELLI et al., (2000) relataram que a cerveja ingerida por humanos, induziu ao aumento significativo da atividade de antioxidante no plasma, como resultado da transferência de ácidos de fenólicos da cerveja para os fluidos do corpo. WEI e colaboradores (2001) realizaram uma pesquisa estabelecendo relação entre os compostos voláteis da cerveja e atividade antioxidante, no entanto, os mesmos autores descrevem a dificuldade em atribuir estas habilidades antioxidantes somente a compostos voláteis isolados.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que o consumo moderado e freqüente de cerveja pode ser fonte de compostos fenólicos ao ser humano. A cerveja escura de trigo, apresentou maiores valores de polifenóis totais, seguida das cervejas escura de cevada, cervejas clara de trigo e cervejas clara de cevada. Consideráveis valores foram encontrados neste trabalho na determinação da atividade antioxidante, tanto pelo método ABTS como DPPH, estes valores estão correlacionados ao conteúdo de compostos fenólicos, sendo maior para o método DPPH (r^2 0,9229) que para o método ABTS (r^2 0,8959). Obtendo assim maior correlação com o método DPPH que com o método ABTS.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro, e a Cervejaria Sudbrack - Eisenbahn® Blumenau/SC, pelo fornecimento das amostras de cerveja, para realização deste estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Biotecnologia: alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher. v.5, 1983, 243p.

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.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.

BELLEVILLE, J. The French Paradox: possible involvement of ethanol in the protective effect against cardiovascular diseases. **Journal Nutrition**, v. 18, p. 173-177, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.** v.22, p. 25-30. 1995.

BRIGHT, D.; STEWART, G.C.; PATINO, H.; A novel assay for antioxidant potential of specialty malts. **Journal American Society Brewing Chemistry**,. v. 57, p.133-137, 1999.

- DENKE, M. A. Nutritional and health benefits of beer. **American Journal Medicine Science**. v. 5, p. 320-326, 2000.
- FANTOZZI, P.; MONTANARI, L.; MANCINI, F.; GASBARRINI, A; ADDOLORATO, G.; SIMONCINI, M.; NARDINI, M.; GHISELLI, A.; SCACCINI. In vitro antioxidant capacity from wort to beer. **Lebensm. -Wiss. u.-Technol.** v. 31, p. 221-227, 1998.
- GHISELLI, A.; NATELLA, F.; GUIDI, A.; MONTANARI, L.; FANTOZZI, P.; SCARRINI, C. Beer increases plasma antioxidant capacity in humans. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 11, p. 76-80, 2000.
- GONZALEZ SAN JOSÉ, M. L.; MUNIZ RODRIGUEZ, P.; VALL BELLÉS, Y. V. Actividad antioxidante de la cerveza:estúdios in vitro e in vivo (1º parte). **Cerveza e Salud**. v. 154, p. 47-54, 2001.
- GOUPY, P.; HUGUES, M.; BOIVIN, P.; AMIOT, M.J. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 79, p. 1625-1634, 1999.
- GORINSTEIN, S.; CASPI, A.; ZEMSER, M., TRAKHTENBERG, S. Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines. **Nutrition Research**, v.20, n.1, p. 131-139, 2000.
- GRONBAEK M.; DEIS, A., SORENSEN, T,I., BECKER, U., SCHNOHR, P. JENSEN, G. Mortality associated with moderates intakes of wine, beer, or spirits. **British Medical Journal**, v. 310, P. 1165-1169, 1995.
- KIM, D-O.; LEE, K.W.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Vitamina C equivalente antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3713-3717, 2002.
- KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARILLA, M. C.; FETT, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.4, 2004, p. 691-693.
- MAILLARD, M.-N.; SOUM, M.-H.; BOIVIN, P.; BERSET, C. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **Lebensm. Wiss. Technol**, v.29, p. 238-244, 1996.
- MATAIX, J. La Cerveza, Tradición y Cultura Mediterrânea. **Cerveza e Salud**, v. 161, p. 41-44, 2004.
- MARTÍNEZ, J. R. El consumo moderado de cerveza en una dieta sana e equilibrada puede reducir el riesgo cardiovascular. **Cerveza e Salud**, v. 162, p. 65-68, 2004.
- PELLEGRINI, N.; SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; DEL RIO, D.; SALVATORE, S.; BIANCHI, M.; BRIGHENI, F. Total antioxidant capacity of plants foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays, **Journal Nutrition**, v. 133, p. 2812-2819, 2003.

PEPPER B., **The international Book of Beer**, Smithmark Publishers: New York, 1997, p. 8-9.

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 Biological Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure Antioxidant Activity Relationships Of Flavonoids And Phenolic Acids. **Free Radical Biological Medicine**, v. 7, p. 933-956, 1997.

ROSSI, J. A. Jr.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enol. Vitic.** v. 16, p. 144-158, 1965.

SAURA F.D.; GOÑI, I.; MARTÍN, C.; PULIDO, R. Fibra dietética en cerveza: contenido, composición y evaluación nutricional (2º parte y final). *Cerveza e Salud*, v. 159, p. 61-67, 2003.

SERRA, L. **La Cerveja en el Contexto de la Dieta Mediterránea**. In: I Simpósio Internacional de la Cerveza. España, 2002.

WEI, A.; MURA, K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidative activity of volatile chemicals extracted from beer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4097-4101, 2001.

CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos no decorrer deste estudo, pode-se concluir que a cerveja e o chopp, se consumidos de forma moderada e constante, podem ser fontes de compostos fenólicos com atividade antioxidante. Tanto para atividade antioxidante como para o conteúdo de compostos fenólicos, a cerveja escura de trigo, apresentou maiores valores de polifenóis totais, seguida das cervejas escura de cevada, das cervejas clara de trigo e as cervejas clara de cevada.

Os resultados demonstraram que a cevada como componente essencial na produção de cervejas, contém elevado conteúdo de compostos fenólicos e, pode ser considerada fonte principal de fenólicos na cerveja com capacidade antioxidante significativa.

Os extratos do bagaço da cevada obtidos tanto pelo método de extração direta como seqüencial demonstram que no bagaço permaneceram valores expressivos de fenóis totais. Sendo que na extração sequencial, a acetona apresentou melhor poder extrator, e nas diferentes proporções, a 70% obteve-se melhor resultado, para extrair os compostos fenólicos. Além do mais, observou-se que o bagaço seco, apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos, e isto pode ser devido ao efeito da temperatura, deixando os ácidos fenólicos livres.

Os resultados permitem considerar que na determinação da atividade antioxidante, tanto pelos métodos químicos: ABTS ou DPPH, os valores obtidos se correlacionam ao conteúdo de compostos fenólicos, sendo, no caso das cervejas, um pouco maior aplicando o método DPPH (r^2 0,9229) que o método ABTS (r^2 0,8959). Obtendo-se assim melhor correlação com o método DPPH do que com o método ABTS, embora o valor TEAC para método ABTS seja maior.