

CENTRO UNIVERSITÁRIO GUAIRACÁ
SESG - SOCIEDADE DE EDUCAÇÃO SUPERIOR GUAIRACÁ LTDA
BACHARELADO EM FARMÁCIA

AMANDA DE LIMA PROENÇA

**DETERMINAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS DAS
CERVEJAS DO TIPO WEISS E LAGER**

GUARAPUAVA

2021

AMANDA DE LIMA PROENÇA

**DETERMINAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS DAS
CERVEJAS DO TIPO WEISS E LAGER**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
na forma de Artigo Científico à Uniguairacá,
para obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Prof. Dr. Daniel Brustolin Ludwig

GUARAPUAVA

2021

DETERMINAÇÃO DA AÇÃO ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS DAS CERVEJAS DO TIPO WEISS E LAGER

DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTION AND PHENOLIC COM- POUNDS OF WEISS AND LAGER BEERS

FILIAÇÃO

¹Acadêmica do Curso de Farmácia
do Centro Universitário UniGuairacá.
E-mail: amanda.lima2.al@gmail.com

AUTORES

Amanda de Lima Proença¹
Daniel Brustolin Ludwig²

²Doutor em Química e Docente do curso
de Farmácia, UniGuairacá, Guarapuava-PR,
Brasil. E-mail: dludwig78@gmail.com

ABSTRACT

Beer is a widely consumed beverage with enormous production, has low alcohol content and is composed of nutrients, carbohydrates, vitamins, amino acids and phenolic compounds, components that favor some beneficial health effects such as anti-inflammatory action, on the concentrations of lipoproteins and antioxidant properties, which act to reduce probable cardiovascular diseases and cancer. The aim of this study is to determine the antioxidant activity and the presence of phenolic compounds in Weiss and Lager beers, using the DPPH and RCR methods – Chromogenic reactions for phenols and tannins. In the antioxidant analysis samples of beers and standards resveratrol and ferulic acid were used at initial concentrations of 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL and 25 µg/mL and after the addition of DPPH the concentrations were 10 µg /mL, 5 µg/mL, 2.5 µg/mL and 1.25 µg/mL, while for the analysis of phenolic compounds, 3 mL of each type of beer in an alcoholic solution of 0.1 mol FeCl₃ was used. The results of the antioxidant action were obtained by calculating the inhibitory percentage and mean and standard deviation with analysis of variance test ANOVA, where Weiss beer showed around 62% inhibition, while Lager 52% inhibition, and the results of phenolic compounds was compared to blank samples with precipitate formation and turbidity that indicated positive

reactions for both samples. It was concluded that Weiss beer has greater antioxidant activity and greater turbidity in the phenols and tannins tests than Lager beer, but both types of beer should be consumed moderately for health benefits.

Key word: Beer; Phenolic compounds; Antioxidant action.

RESUMO

A cerveja é uma bebida muito consumida e com uma enorme produção, tanto industrial como em microcervejarias, possui baixo teor alcóolico e é composta por nutrientes, carboidratos, vitaminas, aminoácidos e compostos fenólicos, componentes estes que favorecem para alguns efeitos benéficos a saúde como a ação anti-inflamatórias, ação sobre as concentrações de lipoproteínas e propriedades antioxidantes, que atuam combatendo prováveis doenças cardiovasculares e câncer. O objetivo do presente estudo é determinar a atividade antioxidante e a presença de compostos fenólicos das cervejas Weiss e Lager, com os métodos de DPPH e RCR – Reações cromogênicas para fenóis e taninos. Nas análises antioxidantes foram utilizadas amostras das cervejas e dos padrões resveratrol e ácido ferúlico nas concentrações iniciais de 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL e 25 µg/mL e após a adição do DPPH as concentrações ficaram em 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL e 1,25 µg/mL, já para as análises de compostos fenólicos foi utilizada 3 mL de cada tipo de cerveja em solução alcoólica de FeCl₃ a 0,1 mol. Os resultados da ação antioxidante foram obtidos pelos cálculos de porcentagem inibitória e média e desvio padrão com teste de análise de variância ANOVA, onde a cerveja Weiss apresentou em torno de 62% de inibição, enquanto a Lager 52% de inibição, e os resultados dos compostos fenólicos foi comparado amostras branco com a formação de precipitado e turvação que indicaram reações positivas para ambas as amostras. Concluiu-se que a cerveja Weiss apresenta maior atividade antioxidante e maior turvação nos testes de fenóis e taninos do que a cerveja Lager, porém os dois tipos de cerveja devem ser consumidos de forma moderada para que haja benefícios a saúde.

Palavra-chave: Cerveja; Compostos fenólicos; Ação antioxidante.

INTRODUÇÃO

A cerveja é umas das bebidas mais consumidas no Brasil e segundo o Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja são consumidos 13 bilhões de litros/ano, sendo o terceiro maior fabricante mundial com 13,3 bilhões de litros produzidos, atrás, somente, da China (46 bilhões) e dos Estados Unidos (22,1 bilhões) (1).

Segundo a legislação brasileira definida através do Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997.

(...) **Art 64.** Cerveja é a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo. Parte do malte de cevada poderá ser substituído por cereais maltados ou não, e por carboidratos de origem vegetal transformados ou não, ficando estabelecido que os cereais referidos neste artigo são a cevada, o arroz, o trigo, o centeio, o milho, a aveia e o sorgo, todos integrais, em flocos ou a sua parte amilácea. **Art 67.** De acordo com o seu tipo, a cerveja poderá ser denominada: “Pilsen”, “Export”, “Lager”, “Dortmunder”, “München”, “Bock”, “Malzbier”, “Ale”, “Stout”, “Porter”, “Weissbier”, “Alt” e outras denominações internacionalmente reconhecidas que vierem a ser criadas, observadas as características do produto original.

Cervejas do tipo Weiss são produzidas com um percentual de malte de trigo dando a bebida uma espuma cremosa, colocarão clara com turbidez, é leve e refrescante com um aroma que lembra pão, cravo e banana (oriundo da levedura) bem característico desse estilo. Já a cerveja Lager é produzida com malte de cevada, com baixa fermentação, onde o fermento tende a descer para o fundo do tanque durante o processo de fermentação que é feito em baixas temperaturas e por um tempo maior (2).

A cerveja é uma das bebidas de baixo nível alcoólico, em torno de 4 a 8%, rica em nutrientes e outros componentes, como carboidratos, aminoácidos, minerais, vitaminas e compostos fenólicos (3). Alguns dos efeitos benéficos são a redução do risco de doenças cardiovasculares e câncer, relacionados ao teor de etanol e de compostos polifenólicos, propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, esses compostos tem ação sobre as concentrações de lipoproteínas e expressão de moléculas de adesão, melhorando a sensibilidade à insulina e a função endotelial, pois cerca de 70% dos compostos fenólicos são derivados do malte e 30% do lúpulo, e é através desses compostos que se desenvolve as características sensoriais da cerveja (cor, aroma e sabor) (4).

Esses compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes, que por sua vez estimula o aumento da ação antioxidante no plasma, pois agem como sequestradores de radicais livres atuando tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (5).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estipula-se como consumo moderado de álcool a ingestão diária de uma dose (10 a 15 gramas de etanol) para as mulheres, ou seja, 180 mL e duas doses para os homens (de 20 a 30 gramas de etanol), equivalente a 360 mL de cerveja. O consumo de doses diárias acima disso é considerada prejudicial e pode causar algum risco para a saúde dos indivíduos (6).

Esse trabalho teve como objetivo definir qual dos tipos de cerveja (Weiss ou Lager) tem maior ação antioxidante e qual apresenta a maior quantidade de compostos fenólicos, a fim de determinar qual terá maior benefício a saúde.

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Determinar a atividade antioxidante e a presença de compostos fenólicos de cervejas Weiss e Lager, com os métodos de DPPH e RCR – Reações cromogênicas.

Objetivos Específicos

- Avaliação da atividade antioxidante sobre o radical artificial: *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)*;
- Determinar a presença de compostos fenólicos para fenóis e taninos.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de cervejas do tipo Weiss foram fornecidas pela cervejaria experimental da Cooperativa Agrária Agroindustrial, e as do tipo Lager foram obtidas no mercado local. Sendo as garrafas de cervejas Lager do mesmo lote.

Obtenção dos resíduos secos das cervejas Weiss e Lager.

Em placas de petri sem tampa, devidamente higienizadas e desinfetadas com álcool 70%, foi adicionado 10 mL de cada amostra de cerveja Weiss e Lager e deixado em estufa a 37°C para completa secagem, depois de secas retiradas cuidadosamente da estufa com o auxílio de uma pinça, para não agregar peso as placas, sendo elas resfriadas e obtidas as taras individuais em balança analítica.

Após resfriadas e pesadas, as amostras foram diluídas em 4 concentrações (200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL e 25 µg/mL) para ser realizadas as análises que seguem.

Determinação da atividade antioxidante.

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

Desenvolvido por Brand-Willams *et al.*, (1995) com modificações Kim *et al.*, (2002) o método DPPH apresenta uma diminuição da absorbância no comprimento de onda 515 nm, que reage com um elétron doado por um composto antioxidante (3). A solução de DPPH 100 µM, foi dissolvido em etanol 99%. Em uma microplaca de quartzo foi adicionada 10 µL de amostras de cerveja Weiss e Lager, e das amostras padrão de resveratrol e ácido ferúlico, nas concentrações iniciais de 200 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL e 25 µg/mL, e após adicionar 190 µL de DPPH totalizando 200 µL em cada poço da microplaca nas concentrações finais de 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2,5 µg/mL e 1,25 µg/mL. Após preparada ficou reservada 60 minutos em local escuro, a temperatura ambiente, sendo então, realizada a primeira leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 517 nm, e feito uma segunda leitura 90 minutos após a preparação da microplaca.

Determinação dos compostos fenólicos por RCR – Reações Cromogênicas

Testes para fenóis e taninos

De acordo com Maciel *et al.*, (2013) foram pipetados 3 mL de amostras de cerveja Weiss e Lager em tubos de ensaio, e adicionado três gotas de solução alcoólica de FeCl₃ a 0,1 M em cada tubo.

Análises Estatísticas

Os resultados das análises antioxidantes estão apresentados como média \pm desvio padrão (DP). Comparações estatísticas foram feitas pela ANOVA de 1 fator para garantir a qualidade das análises. Diferenças foram consideradas estatisticamente com significância de $p < 0,05$ pela comparação entre as médias pelo pós teste de Tukey. Todas as análises foram feitas em triplicata.

Cálculo da porcentagem de inibição

Os resultados das análises do DPPH foram expressos em % de inibição tiveram seus resultados determinados pela fórmula abaixo esquematizada.

$$\% \text{ de inibição} = (A_c - A_t) / A_c \times 100$$

Sendo que: A_c = absorvância do controle e A_t = absorvância do teste

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade antioxidante pelo método de DPPH

A atividade antioxidante das cervejas Weiss e Lager sobre o DPPH (figuras 1 e 2) nos tempos de 60 e 90 minutos, é mais manifestada na cerveja Weiss onde teve uma queda de absorvância maior em relação a cerveja Lager.

Figura 1. Efeito das amostras sobre a ação do DPPH (100 μ M) foi incubada 60 minutos ao abrigo da luz e temperatura ambiente, com diferentes concentrações da cerveja. A absorbância do DPPH foi observada espectrofotometricamente a 517 nm. R – Resveratrol; AF – Ácido ferúlico; W – Cerveja Tipo Weiss; L – Cerveja Tipo Lager. **Fonte:** Autora, 2021

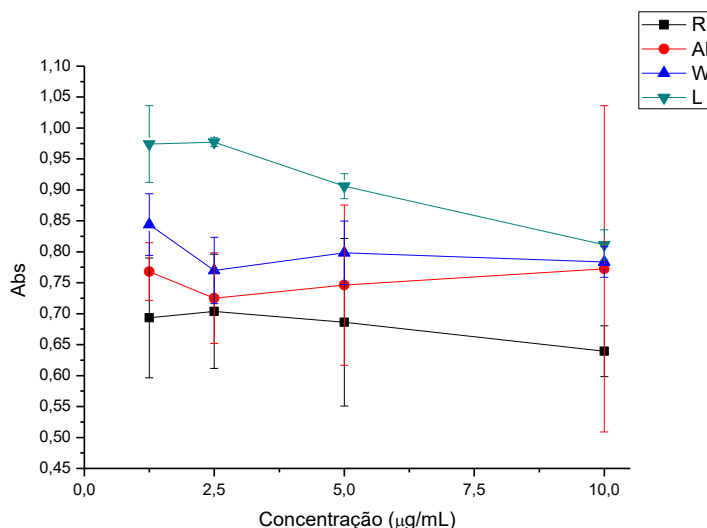
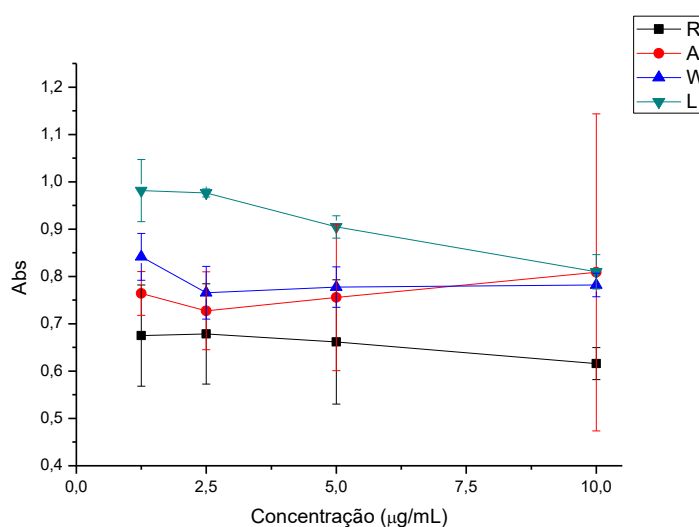


Figura 2. Efeito das amostras sobre a ação do DPPH (100 μ M) foi incubada 90 minutos ao abrigo da luz e temperatura ambiente, com diferentes concentrações da cerveja. A absorbância do DPPH foi observada espectrofotometricamente a 517 nm. R – Resveratrol; AF – Ácido ferúlico; W – Cerveja Tipo Weiss; L – Cerveja Tipo Lager. **Fonte:** Autora, 2021.



Os resultados obtidos através da porcentagem de inibição e desvio padrão (tabelas 1 e 2) indicam que a cerveja Weiss tem uma ação antioxidante maior, comparado com a cerveja Lager que teve diferença estatística nas concentrações de 1,25 μ g/mL e 2,5 μ g/mL nos tempos

de 60 e 90 minutos e conforme as amostras foram diluídas a porcentagem de inibição também foi diminuindo.

Tabela 1. Porcentagem de inibição (%) e desvio padrão (DP) respectivamente, do DPPH obtido pela exposição do mesmo a diferentes concentrações das amostras de cerveja e as amostras padrão no tempo de 60 minutos. * indica diferença estatística significativa entre as amostras (ANOVA de 1 fator $p < 0,05$) ($n = 3$).

Concentração	Resveratrol	Ácido ferúlico	Cerveja Weiss	Cerveja Lager
1,25 µg/mL	66,5 ± 4,7	62,9 ± 2,2	59,2 ± 2,4	52,9 ± 3,0*
2,5 µg/mL	66,0 ± 4,5	65,0 ± 3,5	62,8 ± 2,6	52,7 ± 0,3*
5 µg/mL	66,8 ± 6,5	64,0 ± 6,3	61,4 ± 2,5	56,2 ± 1,0
10 µg/mL	69,1 ± 2,0	62,6 ± 12,7	62,1 ± 1,2	60,8 ± 1,2

Tabela 2 Porcentagem de inibição (%) e desvio padrão (DP) respectivamente, do DPPH obtido pela exposição do mesmo a diferentes concentrações das amostras de cerveja e as amostras padrão no tempo de 90 minutos. * indica diferença estatística significativa entre as amostras (ANOVA de 1 fator $p < 0,05$) ($n = 3$).

Concentração	Resveratrol	Ácido ferúlico	Cerveja Weiss	Cerveja Lager
1,25 µg/mL	67,4 ± 5,2	63,0 ± 2,2	59,3 ± 2,4	52,5 ± 3,2*
2,5 µg/mL	67,2 ± 5,1	64,9 ± 4,0	63,0 ± 2,7	52,8 ± 0,4*
5 µg/mL	68,0 ± 6,3	63,5 ± 7,5	62,4 ± 2,1	56,3 ± 1,1
10 µg/mL	70,2 ± 1,6	61,0 ± 16,2	62,2 ± 1,2	60,9 ± 1,7

Nas figuras 3 e 4 os resultados obtidos nas menores concentrações da cerveja Lager indicam que houve diferença estatística nas concentrações de 1,25 µg/mL e 2,5 µg/mL nos

tempos de 60 e 90 minutos. A queda da absorbância do tipo Weiss é maior que a do tipo Lager, isso determina uma maior ação antioxidante como demonstrado também nas figuras 5 e 6.

Figura 3. Resultados das amostras na concentração de 1,25 µg/mL nos tempos de 60 e 90 minutos. * indica diferença estatística significativa entre as amostras (ANOVA de 1 fator $p < 0,05$) (n = 3). **Fonte:** Autora, 2021.

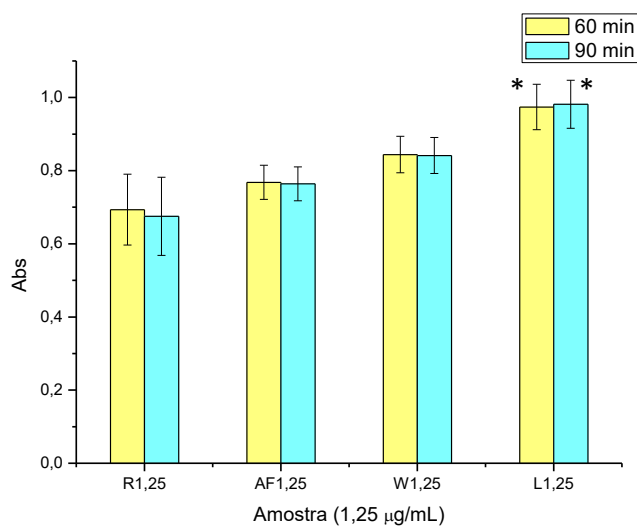


Figura 4. Resultados das amostras na concentração de 2,5 µg/mL nos tempos de 60 e 90 minutos. * indica diferença estatística significativa entre as amostras (ANOVA de 1 fator $p < 0,05$) (n = 3). **Fonte:** Autora, 2021.

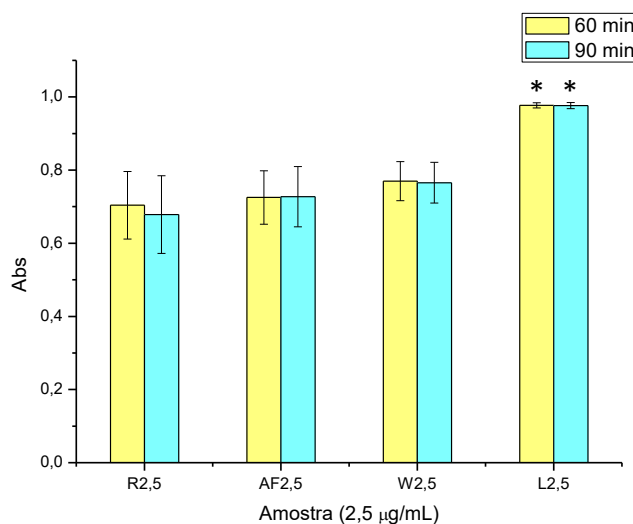


Figura 5. Resultados das amostras na concentração de 5 µg/mL nos tempos de 60 e 90 minutos.

Fonte: Autora, 2021.

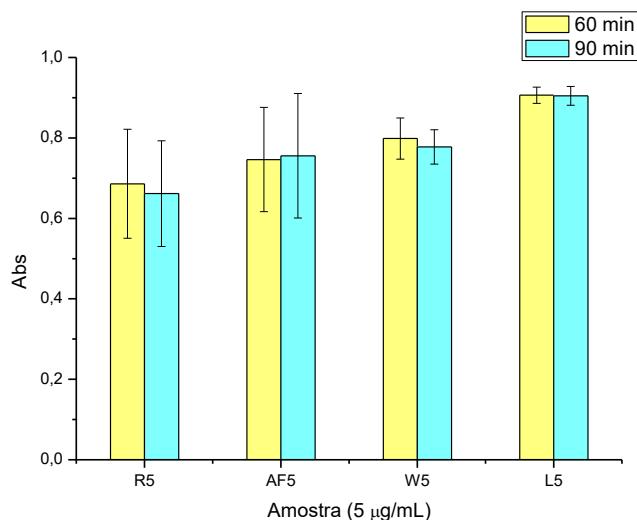
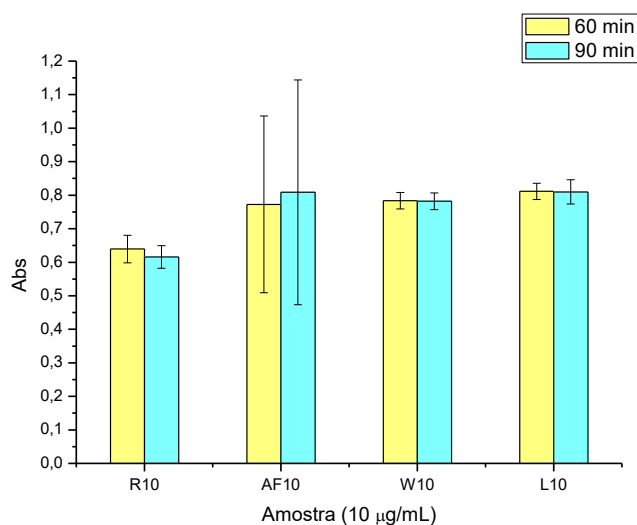


Figura 6. Resultados das amostras na concentração de 10 µg/mL nos tempos de 60 e 90 minutos. **Fonte:**

Autora, 2021.



Os métodos químicos de avaliação da atividade antioxidante geralmente são baseados na captura de radicais livres ou na determinação da sua capacidade redutora. Possibilita obter boas correlações entre a atividade antioxidante e meia vida dos produtos, e geralmente são os primeiros ensaios, portanto permite apenas aproximações a seus efeitos protetores a saúde. Além do mais, a atividade antioxidante é dependente de vários fatores, envolvendo as propriedades coloidais dos substratos, das condições e etapas de oxidação, da produção e

estabilidade dos radicais, assim como da possível localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento nos alimentos. (7)

Ainda sobre os estudos de Freitas (2006) os resultados obtidos demonstraram que o consumo moderado e frequente de cerveja pode ser fonte de compostos fenólicos ao ser humano. A cerveja escura de trigo, mostrou maiores valores de polifenóis totais, seguida das cervejas escura de cevada, cervejas clara de trigo e cervejas clara de cevada. Consideráveis valores foram encontrados na determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH.

Segundo Weiller & Bezerra (2017) que utilizaram cerveja artesanal do estilo Weissbier incorporadas de especiarias, a atividade antioxidante determinada pelo método de captura do radical DPPH, o extrato de hortelã a 10%, foi o mais eficaz, seguido dos extratos de cravo e canela a 10%. Já os insumos cervejeiros demonstraram os menores percentuais de atividade antioxidante pelo método utilizado.

As atividades antioxidantes das diferentes cervejas artesanais analisadas por Vieira *et al.*, (2021) apresentaram maiores valores de antioxidantes, com diferença estatisticamente significativa utilizando o método de TEAC. Fator este que não se repetiu na análise de FRAP, em que uma amostra comercial apresentou uma concentração de antioxidante um pouco superior, mas estatisticamente diferente das demais amostras.

Segundo Silva *et al.*, (2021) em seus estudos é possível observar que as cervejas do tipo Lager apresentaram maior abundância de ácido gálico, ácido ferúlico, ácido 5-cafeoilquímico e o ácido vanílico que foi encontrado em maior quantidade.

No presente trabalho a cerveja tipo Weiss foi a que apresentou determinação da ação antioxidante maior em relação a cerveja do tipo Lager, assim como nos outros trabalhos citados anteriormente.

Determinação de presença de compostos fenólicos

Fenóis e taninos

Tanto na cerveja Weiss quanto na Lager houve turvação na amostra com formação de precipitado escuro, que indica que os resultados foram positivos para esses compostos fenólicos. Contudo na cerveja Weiss observou-se que teve uma turvação maior com precipitado mais escuro, indicativo da possibilidade de uma maior quantidade de compostos fenólicos,

correlacionando com os resultados da determinação da ação antioxidante que foram maiores para a cerveja tipo Weiss.

Figura 7. Amostras de cerveja Weiss. No tubo 1 é o teste branco e o 2 teve a presença de precipitado com turvação da amostra. **Fonte:** Autora, 2021.



Figura 8. Amostra de cerveja Lager. No tubo 1 teve a presença de precipitado com turvação da amostra, e o tubo 2 é o teste branco. **Fonte:** Autora, 2012.



Segundo Souza (2015) taninos são compostos fenólicos hidrossolúveis, com peso molecular entre 500 e 3000 Dalton e capacidade para precipitar proteína. Contêm grupos hidroxila fenólica, para permitir a realização de ligações cruzadas estáveis com proteínas. Quando combinados com as proteínas solúveis da cerveja, os taninos formam complexos que aumentam a turbidez impedindo o processo de filtração.

Os processos de oxidação que acontece nos alimentos é agente influenciável na vida de prateleira de muitos produtos alimentícios. Diante disso, os compostos fenólicos presentes na cerveja apresentam grande influência no seu processo de conservação, sendo de suma importância econômica para as indústrias, já que a oxidação desses podem modificar as características sensoriais da cerveja, como o sabor, cor e o aroma. Um exemplo é a oxidação dos taninos que pode acarretar ao escurecimento da bebida (12).

Weiller & Bezerra (2017) estudaram sobre os compostos fenólicos presentes em cervejas do tipo Weissbier com adição de especiarias, onde todas as especiarias apresentam fenólicos totais quantificados superiores aos insumos cervejeiros. No entanto, o extrato com 10% de cravo foi o que mostrou uma maior quantificação, seguido do extrato de canela a 10%

As cervejas do tipo Lager, como as dos estilos Pilsner e American Lager, apresentaram teores de compostos fenólicos menores. Estes estilos são caracterizados por cervejas de coloração clara, produzidas com maltes menos torrados (10).

As análises para determinação da presença de compostos fenólicos realizadas nesse trabalho foram feitas através da análise de reações cromogênicas onde se observou que teve turvação e formação de precipitado nos dois tipos de cervejas analisadas, contudo na cerveja Weiss teve uma maior precipitação com formação de precipitado mais escuro que pode indicar maior presença de fenóis e taninos.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que a cerveja Weiss apresenta uma atividade antioxidante maior, e os resultados da determinação de compostos fenólicos dos testes de fenóis e taninos podem indicar uma maior presença na cerveja Weiss, em relação a do tipo Lager, porém as duas se consumidas de forma moderada pode trazer benefícios a saúde pois sugere uma grande influência desses compostos na ação contra os radicais livres.

As referências desse trabalho feitas conforme a Revista Infarma, no estilo Vancouver.

REFERÊNCIAS

1. Produção da cerveja por país entre 1990 e 2016. Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja. [Internet].2016 [cited 2021 Abr 04]. Available from: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>
2. Conheça os diferentes tipos de cervejas. Ambev Blog. [Internet].2019. [cited 2021 Dez 10]. Available from: <https://www.ambev.com.br/blog/categoria/cerveja/conheca-os-diferentes-tipos-de-cerveja/>
3. Brasil. Lei nº 8.918, de 14 de junho de 1994. (Marco Civil da Internet). Dispõe sobre as bebidas alcoólicas fermentadas. (Marco Civil da Internet). Diário Oficial da União. (seção 1).
4. Freitas GL De, Kuskoski EM, Gonzaga L, Fett R. Diferentes Cervejas Aplicando Os Métodos Abts E Dpph *. Aliment e Nutr. 2006;17(3):303–7.
5. Rampazzo V. Caracterização da composição fenólica e capacidade antioxidante de cervejas comerciais de diferentes processos de fermentação [completion of course work]. Universidade tecnológica federal do Paraná. Campo Mourão. 2014. 51p.
6. Almeida-Pititto B de, Moraes ACF de, Ferreira SRG. O lado saudável do consumo de bebida alcoólica. Rev USP. 2013;0(96):55
7. Freitas GL De. Potencial antioxidante e compostos fenólicos na cerveja, choop, cevada (*Hordeum vulgare* L.) e no bagaço de brassagem [master's thesis]. Universidade federal de santa catarina centro de ciências agrárias. Florianópolis. 2006. 86p.
8. Weiller J, Bezerra AS. Elaboração e análise da atividade antioxidante de cervejas artesanais incorporadas de especiarias Revista de educação, ciência e tecnologia do ifam. 2017;31(4):15–30.
9. Vieira ACG, Lacerda ECQ, Sant'Ana GCF, Leão MHM da R, Amaral PF. Atividade Antioxidante Em Cerveja Comercial De Trigo / Antioxidant Activity in Commercial Wheat Beer. Brazilian J Dev. 2021;7(2):15217–22.
10. Silva RNP da, Dias JF, Koblitz MGB. Cervejas: relação entre estilos; compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Res Soc Dev. 2021;10(3):e42210313471.
11. Souza P. Estudo do potencial biotecnológico do rizoma de *Zingiber zurumbet* L. Smith como adjunto na produção de cerveja artesanal [dissertation] Universidade federal do Amazonas programa de pós-graduação em biotecnologia doutorado em biotecnologia. Manaus. 2015. 87p
12. Maciel DC, Elói LMH, Jordão CDO. Compostos Fenólicos em Diferentes Marcas de Cerveja: Comparação Qualitativa de Diferentes Marcas e Sua Relação com a Saúde Humana. Rev Bras Multidiscip. 2013;16(1):41.