

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENGENHARIA QUÍMICA

MILENA BOROCHOK DO PRADO

**AVALIAÇÃO DO *TRUB* QUENTE COMO POTENCIAL INGREDIENTE
PARA A PRODUÇÃO DE COSMÉTICOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2021

MILENA BOROCHOK DO PRADO

**AVALIAÇÃO DO *TRUB* QUENTE COMO POTENCIAL INGREDIENTE
PARA A PRODUÇÃO DE COSMÉTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química, do Departamento de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alessandra
Cristine Novak Sydney

PONTA GROSSA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Ponta Grossa

1.1.1 **Curso de Engenharia Química**



TERMO DE APROVAÇÃO

UTILIZAÇÃO DO TRUB QUENTE COMO INGREDIENTE PARA A PRODUÇÃO DE COSMÉTICOS

por

Milena Borochock do Prado

Monografia apresentada no dia 15 de outubro de 2021 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **AValiação do Trub Quente como Potencial Ingrediente para a Produção de Cosméticos** aprovado.

Prof. Dr.^a Maria Carolina Oliveira Ribeiro

Prof. Dr. Luciano Fernandes

Prof.^a Dr.^a Alessandra Cristine Novak Sydney
Orientador

Profa. Dra. Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso.

RESUMO

PRADO, Milena Borochock. **Avaliação do *trub* quente como potencial ingrediente para a produção de cosméticos**. 2021. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2021.

O Brasil é um dos maiores produtores e consumidores de cerveja do mundo. A bioconversão de resíduos nas cadeias agroindustriais se torna cada vez mais necessária, buscando diminuir seus impactos na natureza devido à alta carga orgânica e nutricional que possuem. A busca por novas fontes de matérias-primas obtidas de forma sustentável e responsável para a indústria cosmética vem se intensificando cada vez mais. Existe uma tendência da utilização de ingredientes naturais, orgânicos e que não demandem testes em animais nas formulações. Frequentemente incorporam-se extratos antioxidantes em formulações cosméticas. Nesse contexto o resíduo *trub* do processo cervejeiro se mostra promissor, pois possui carga altamente proteica e antioxidante. Apesar de ser rico em compostos interessantes, o *trub* é pouco estudado, principalmente na área cosmética. Ensaio de compostos fenólicos e flavonoides em uma extração aquosa de um *trub* retirado de uma cervejaria artesanal, realizados neste trabalho, apresentaram valores interessantes desses compostos, e teores não ótimos de atividade antioxidante. O ensaio de toxicidade considerou a amostra como atóxica. Valores não ideais encontrados não é fator decisivo para se dizer que o *trub* não apresenta essas características, pois pode ter maior extração em outros tipos de solventes, concentrações e metodologias de extração, além de diferença de composição de acordo com os diferentes tipos de cerveja. A literatura mostra altos teores de proteínas, polifenóis, carboidratos, minerais e ácidos graxos nesse resíduo, além de possuir um aspecto granuloso após tratado, o que nos faz crer que pode potencialmente ser incorporado numa formulação cosmética.

Palavras-chave: *Trub*. Antioxidante. Cosmético.

ABSTRACT

PRADO, Milena Borochock. **Avaliation of hot trub as a potencial ingredient to the production of cosmetics**. 2020..55 p. Work of Conclusion Course (Bachelor of Chemical Engineering) -Universidade Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2021.

Brazil is one of the biggest producers and consumers of beer in the world. Bioconversion of residues in the agroindustrial chains are becoming more required, aiming to decrease its impact on the nature due to high organic and nutritional load. The search for new sources of raw material obtained from sustainable and responsible ways for the cosmetic industry has been intensifying increasingly. There is a tendency of use of natural ingredients, organics and the ones that don't test on animals on formulations. Frequently antioxidant extracts are incorporated in cosmetics formulations. In this context, the *trub* residue of the brewing process is promising, because of its highly protein and antioxidant load. Despite being rich in interesting compounds, trub is little studied, especially in the cosmetic area. Tests of phenolic compounds and flavonoids in an aqueous extraction of a trub taken from a craft brewery, carried out in this work, showed interesting values of these compounds, and non-optimal levels of antioxidant activity. The toxicity test considered the sample as non-toxic. Non-ideal values found is not a decisive factor to say that trub does not have these characteristics, as it may have greater extraction in other types of solvents, concentrations and extraction methodologies, in addition to a difference in composition according to the different types of beer. Literature shows high levels of proteins, polyphenols, carbohydrates, minerals and fatty acids in this residue, in addition to having a grainy appearance after treatment, which makes us believe that it can potentially be incorporated into a cosmetic formulation.

Keywords: *Trub*. Antioxidant. Cosmetic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma do processo cervejeiro	14
Figura 2 - Estrutura do radical livre DPPH*	21
Figura 3 - Mecanismo de reação através de um átomo de hidrogênio entre um antioxidante e o radical DPPH*	22
Figura 4 - Reação do ácido gálico com o molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu	24
Figura 5 - Estrutura geral de um flavonoide	25
Figura 6 - Trub no fundo da tina de mostura	31
Figura 7 - Trub em frascos para congelamento.....	32
Figura 8 - Trub seco e moído	33
Figura 9 - amostra após extração aquosa do <i>trub</i>	33
Figura 10 - Curva de inibição de DPPH	34
Figura 11 - amostra após análise do método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu ...	35
Figura 12 - Curva padrão de ácido gálico	36
Figura 13 - Curva de calibração de quercetina.....	38
Figura 14 - Sistema para eclosão das artêmias	39
Figura 15 - Vista das artêmias em um poço no microscópio	40
Figura 16 - Vista da placa de poços no microscópio	41
Figura 17 - Concentração da amostra pela porcentagem de mortos	42

LISTA DE TABELAS

Quadro 1 - Faixa de pH de cada tipo de máscara facial	20
Quadro 2 - Relação entre grau de toxicidade e a concentração letal média (CL ₅₀) ..	27
Quadro 3 - Dados da curva padrão de inibição de DPPH	34
Quadro 4 - Dados da curva padrão de ácido gálico	36
Quadro 5 - Dados da curva padrão de ácido gálico	36
Quadro 6 - Dados da curva padrão de flavonoides totais	37
Quadro 7 - Dados da curva padrão de flavonoides totais	38
Quadro 8 - Organismos vivos adicionados a cada poço da placa de poços	40
Quadro 9 - Organismos sobreviventes após 24 horas de incubação	40
Quadro 10 - % de organismos mortos após 24 horas	41

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Graus Celsius
µg	Microgramas
µL	Microlitros
a.C.	Antes de Cristo
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
CE ₅₀	Concentração efetiva para 50% das amostras
CL ₅₀	Concentração letal média
DPPH*	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
EAG	Equivalentes em Ácido Gálico
g	Grama
H ₂ O	Água
HMeOH	Hidrometanólica
kg	Quilograma
L	Litros
mg	Miligrama
mL	Mililitros
mM	Milimol
nm	Nanômetros

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
--------	--

SUMÁRIO

2 INTRODUÇÃO	10
2.1 PROBLEMA	10
2.2 OBJETIVO GERAL	10
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
2.4 JUSTIFICATIVA	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO CERVEJEIRA	12
3.2 MATÉRIAS-PRIMAS	13
3.3 PROCESSO CERVEJEIRO	13
3.4 RESÍDUOS DO PROCESSO CERVEJEIRO	16
3.4.1 Bagaço de Malte	16
3.4.2 <i>Trub</i> Quente	17
3.4.3 Levedura Residual	18
3.5 COSMÉTICOS	18
3.5.1 Formulações Cosméticas	19
3.5.2 Tipos de Formulações Cosméticas	19
3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	20
3.7 COMPOSTOS FENÓLICOS	22
3.7.1 Flavonoides	24
3.8 TOXICIDADE	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 COLETA DO MATERIAL E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	27
4.2 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	28
4.3 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE – MÉTODO DPPH	28
4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS	29
4.5 DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
5.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	34
5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS	35
5.3 FLAVONOIDES	37
5.4 TOXICIDADE	39
5.5 INCORPORAÇÃO DO <i>TRUB</i> EM PRODUTOS COSMÉTICOS	42
6 CONCLUSÃO	45
7 RECOMENDAÇÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	46
8 REFERÊNCIAS	47

2 INTRODUÇÃO

O mercado cervejeiro cresce mais a cada ano. A cerveja é uma das bebidas mais apreciadas e consumidas em todos os cinco continentes (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014). Acredita-se que o homem já dominava a arte de produzir bebidas fermentadas pela maltagem de grãos desde a antiguidade (ROSA; AFONSO, 2015).

De acordo com o artigo 36 do Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, define-se a cerveja como “bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo do malte de cevada e água potável, por ação da levedura, com adição de lúpulo” (BRASIL, 2009).

Em 2019, o Brasil ficou em terceiro lugar na fabricação mundial de cerveja, com 13,3 bilhões de litros produzidos, atrás da China (46 bilhões) e dos Estados Unidos (22,1 bilhões). Como um todo, a indústria cervejeira gerou R\$ 77 bilhões em faturamento em 2019, equivalente a 2% do PIB e 14% da indústria de transformação nacional. Além disso, contribuiu com R\$ 25 bilhões em impostos para o país e empregou algo próximo de 2,7 milhões de pessoas direta ou indiretamente (SINDICERV, 2019).

Apesar das inovações empregadas no mercado cervejeiro, dificilmente tem-se a redução na quantidade dos resíduos produzidos, e o *trub* quente é um exemplo disso. O *trub* quente é o segundo resíduo gerado no processo cervejeiro, na etapa onde se promove o *whirpool* após a fervura do mosto. O *trub* é um agregado insolúvel, que se associa formando pequenos flocos, e se caracteriza por ter alto teor de proteínas e outras substâncias arrastadas do mosto durante sua deposição (COSTA, 2017). Alguns autores defendem a utilização do *trub* no processo fermentativo do mosto para aumentar o desempenho do processo, pois pode promover a vitalidade e viabilidade celular por conter lipídios, minerais e fontes proteicas (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014). Porém sua utilização nas etapas posteriores à fervura pode ser extremamente prejudicial ao processo por causar problemas como deposição em tubulações, redução de estabilidade do produto final, e conferir um sabor amargo à bebida (COSTA, 2017). A quantidade de *trub* formado varia de acordo com o malte utilizado, tipo e concentração do lúpulo e com outras especificidades do processo (MUDURA; COLDEA, 2015).

Atualmente, resíduos agroindustriais são estudados tanto pelo seu baixo custo relativo, como por atuarem como antimicrobianos e antioxidantes naturais por

serem fonte de compostos bioativos (BARBOSA-PEREIRA et al., 2013). O desequilíbrio do mecanismo de defesa antioxidante do organismo do ser humano vem sendo considerado o maior responsável pelo envelhecimento da pele. Desta forma, os antioxidantes se mostram grandes aliados na prevenção dos danos oxidativos e manutenção da homeostase cutânea. Nesse contexto, estudos na tentativa de prevenir ou minimizar o envelhecimento vem sendo abordados com frequência na literatura (BIGHETTI; SAMPAIO; GUSMÃO, 2018).

Mediante a importância da diminuição do impacto no meio ambiente e a utilização de um resíduo rico em substâncias benéficas, além do fato de ser um resíduo pouco estudado, pretende-se avaliar o uso do *trub* quente como ingrediente para a produção de cosméticos.

2.1 PROBLEMA

O *trub* quente tem potencial antioxidante e pode ser incorporado em uma formulação cosmética?

2.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial do *trub* como ingrediente bioativo para ser utilizado como ingrediente na produção de cosméticos.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos e flavonoides do *trub*;
- Avaliar a toxicidade do *trub* quente frente a *Artemia salina*;
- Explorar a utilização do *trub* em produtos cosméticos.

2.4 JUSTIFICATIVA

Segundo Mathias, Mello e Sérvulo (2014), devido ao fato do *trub* ter composição rica em compostos orgânicos e poder nutricional significativo, deve-se tratar este resíduo antes de descartá-lo no ambiente, pois pode alterar o equilíbrio ecológico do local. Assim, o presente trabalho tem como justificativa analisar a possibilidade de utilização do *trub*, criando assim valor a um resíduo cervejeiro, e aproveitando suas propriedades fazendo com que se busque produzir um produto com benefícios para a pele.

Atualmente, o *trub* é adicionado ao bagaço de malte ou levedura úmida, também resíduos da indústria cervejeira, e utilizado como ração animal. Não existem muitos estudos sobre o *trub*, porém existe um potencial de ser aplicado na indústria cosmética e farmacêutica (LINHARES, 2018).

A cada ano surgem novos produtos contendo inovações vindas de pesquisas de universidades e de centros de Pesquisa & Desenvolvimento de empresas cosméticas. Na área cosmética, a dermatologia recebe grande destaque, pois cada vez mais as pessoas estão preocupadas com o envelhecimento cutâneo, e buscam formas de preveni-lo (HENRIQUE; LOPES, 2017).

Na composição do *trub* tem-se proteínas, substâncias do lúpulo que não foram solubilizadas durante o processo cervejeiro, polifenóis, carboidratos, minerais e ácidos graxos (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014). O *trub* pode apresentar tanto os compostos não extraídos na filtração do bagaço de malte, como os não extraídos do lúpulo a partir da fervura do mostro. Desta forma, acredita-se que estudar um resíduo tão rico em substâncias importantes para a nossa pele se torna extremamente interessante e foi o que levou a escolha do tema.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HISTÓRICO DA PRODUÇÃO CERVEJEIRA

Presume-se que o início da produção e do consumo da cerveja datam de antes de 8000 a.C. pelos Sumérios, Babilônios e Egípcios (ALMEIDA, 2014). Na idade média a produção da cerveja era desenvolvida pelas mulheres para consumo da família, pois tinha baixo custo em relação ao vinho e podia servir como complemento na alimentação (FERREIRA et al, 2011).

No século VI iniciou-se a produção em maior escala da cerveja nos mosteiros. Neles, foram desenvolvidas as primeiras receitas e técnicas que se tem registro, sendo importante salientar a técnica de conservação a frio como a mais inovadora para a época (FERREIRA et al, 2011). A cerveja começou a ser comercializada em tabernas dentro dos mosteiros (DANTAS, 2016).

Em 1516, foi criada a lei *Reinheitsgebot* (Lei da Pureza da Cerveja), pelo Duque Guilherme IV da Baviera, a qual condicionou a utilização de apenas três ingredientes para a produção cervejeira: água, lúpulo e cevada. Com o tempo adicionou-se o fermento como parte dessa lista (TRINDADE, 2016).

Com os avanços tecnológicos, no século XIX, veio também uma maior valorização da cerveja. Desenvolveu-se a fermentação a frio, com isso, a cerveja era produzida no inverno para consumo no verão. Surgiu assim o tipo *Lager*: cerveja mais clara, mais leve e com sabor acentuado (FERREIRA et al, 2011). A cerveja era desconhecida no Brasil até a chegada das colônias europeias no século XIX, trazendo inúmeros comerciantes que se instalaram e começaram a vender a cerveja no país (SILVA; LEITE; PAULA, 2016).

Nos séculos XX e XXI, há um grande crescimento na cultura cervejeira. Inovações tecnológicas, renascimento da produção caseira e as microcervejarias trouxeram para os consumidores produtos diversificados e com qualidade (FERREIRA et al; 2011).

3.2 MATÉRIAS-PRIMAS

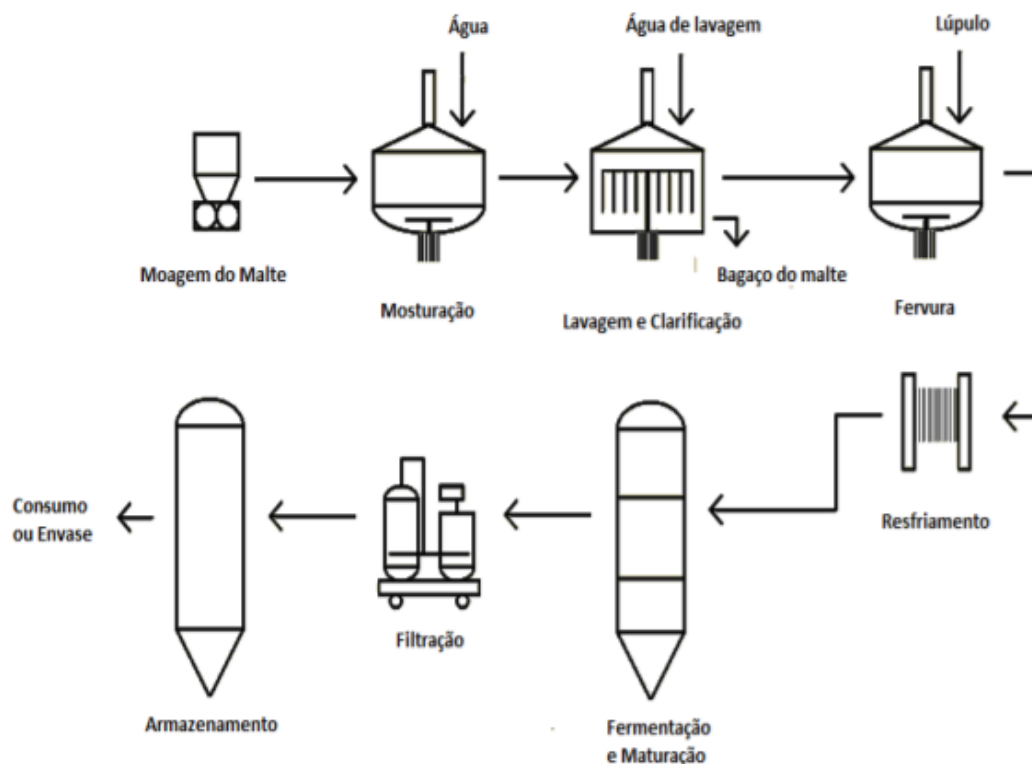
A água representa 90% da composição em massa da cerveja, influenciando diretamente sua qualidade (ROSA; AFONSO, 2015). Deve ser livre de cloro, odores e sabores estranhos, e seu pH deve ser entre neutro e ácido (MUXEL, 2016). O principal cereal utilizado para a maltagem é a cevada, porém, pode-se utilizar até 45% de adjuntos em relação ao malte de cevada, sendo estes quaisquer tipos de cereal, como o milho, o arroz, o trigo, a aveia e o centeio (COSTA, 2017).

O lúpulo traz o característico sabor amargo da cerveja por meio de resinas amargas, bem como contém óleos essenciais, substâncias minerais e polifenóis. Essa composição confere a ele propriedades antimicrobianas. As leveduras utilizadas são as responsáveis pela fermentação do mosto, formando produtos que conferem as características das cervejas. A *Saccharomyces cerevisiae* é utilizada na produção de cervejas de alta fermentação, chamadas de Ale, e a *Saccharomyces pastorianus* pelas de baixa fermentação, chamadas de Lager (MEIER-DÖRNBERG et al., 2017).

3.3 PROCESSO CERVEJEIRO

O processo produtivo da cerveja, independentemente do tipo e da escala em que será produzida, compreende as seguintes etapas: maltagem, moagem do malte, mosturação, fervura ou cozimento, fermentação, maturação, envase e pasteurização (VIVIAN et al, 2016). A figura 1 mostra o processo cervejeiro industrial em forma de fluxograma geral.

Figura 1 - Fluxograma do processo cervejeiro



Fonte: Tozetto (2017)

O processo que converte a cevada em malte, conhecida como maltagem, ocorre em três etapas objetivando aumentar o teor enzimático dos grãos da cevada (ALMEIDA, 2014). A molhagem eleva o teor de água nos grãos, seguindo para a germinação onde acontece a germinação do grão, e por fim, a secagem cessa a atividade enzimática a partir de temperaturas controladas (MARTINS; RODRIGUES, 2015). A torra do malte, ou seja, sua cor, influencia diretamente seu sabor e coloração final. Um bom exemplo disso é a cerveja do subtipo *Stout*, do tipo Ale, cuja cor escura associa o amargor do lúpulo ao adocicado do malte torrado (ROSA; AFONSO, 2015).

A moagem do malte deve ser realizada para desintegrar os grãos, com a finalidade de expor todo o seu amido interno, o endosperma, buscando facilitar o ataque enzimático (MUXEL, 2016). A mosturação é a mistura do malte com a água cervejeira na tina de mostura, também conhecido como cozinhador. Fundamenta-se na extração e hidrólise dos componentes do malte e na solubilização dos carboidratos. O cozimento dos grãos deve ser feito com temperatura, pH e tempo controlados, a fim de converter, a partir da ação das enzimas do malte, o amido em açúcares (ABOUMRAD; BARCELOS, 2015).

Ao final da mosturação ocorre a filtração, onde as cascas do malte e dos adjuntos, que são decantados e separados do mosto pela tina de clarificação ou filtro prensa, e a lavagem da torta (que é o açúcar fermentescível). A partir desse momento, a mostura recebe o nome de mosto (ROSA; AFONSO, 2015).

Na etapa de fervura, leva-se o mosto à ebulição com o objetivo de, segundo Aboumrad e Barcelos (2015): “concentrar o mosto através da evaporação, esterilizá-lo, evaporar compostos indesejados e aumentar o amargor, por intermédio da isomerização de α -ácidos contidos nos lúpulos”. Nesse processo, o lúpulo é adicionado em duas etapas, uma no início e uma mais ao final da fervura. A primeira adição é responsável pelo sabor amargo, e a segunda, pelo aroma característico. Este processo geralmente compreende 80 minutos de fervura e 30 minutos de aquecimento do líquido (TOZETTO, 2017).

Após a fervura, objetiva-se retirar o *trub* por meio de uma técnica chamada *whirpool*, evitando que partículas indesejadas sigam o processo. O *whirpool* consiste em bolear o mosto circularmente criando um redemoinho para aglomerar os resíduos ao fundo da tina de mostura (MILAGRES, 2019).

Resfria-se rapidamente o mosto buscando evitar a contaminação por microrganismos, obter características sensoriais padrão, e promover o *cold break*, o qual previne a cerveja de ficar turva. Para a fermentação ocorrer, deve-se controlar a temperatura, o tempo, a concentração, a composição do mosto, a quantidade e qualidade das leveduras inoculadas. Na fermentação deve-se aerar o mosto, ou seja, adicionar oxigênio de forma a assegurar as condições aeróbicas ideais para o crescimento da levedura (ARAÚJO, 2019).

Após a fermentação tem-se a maturação, período que pode se prolongar por 2 a 4 semanas, promovendo o descanso da cerveja. Nesta etapa ocorre a reabsorção de metabólitos, minimização da turbidez, saturação da cerveja com gás carbônico (carbonatação natural), melhoramento de odor e sabor, impedimento de oxidações e iniciação da clarificação da cerveja (RIBEIRO et al, 2018). Depois da maturação, é realizada a filtração, que pode ser feita com terra diatomácea, perlitas, celulose, carvão ativo e leveduras (REINOLD, 2015). Estes são materiais absorventes que buscam remover partículas em suspensão que podem vir a ser desagradáveis no produto final. Este processo não deve alterar a composição e o sabor da cerveja (ROSA; AFONSO, 2015).

Ao final do processo obtém-se a cerveja, também segundo Rosa e Afonso (2015), bebida cujo prazo de validade varia de 10 a 15 dias. Para assegurar o aumento do prazo de validade para seis meses pós fabricação pode ser realizada a pasteurização. Este processo vem como facilitador pois visa eliminar microrganismos através do aquecimento da cerveja a uma temperatura entre 60 e 70°C, e posterior resfriamento. Ocorre, então, o envase e a rotulagem do produto (TOZETTO, 2017).

3.4 RESÍDUOS DO PROCESSO CERVEJEIRO

Os principais resíduos sólidos oriundos do processo cervejeiro são o bagaço de malte, o *trub* e as leveduras (BONATO, 2016). Estes resíduos são bem impactantes pois aparecem na proporção de 16 a 24 kg gerados a cada 100 litros de cerveja produzida. Como possuem alto teor de umidade em sua composição (cerca de 80 a 90%), são responsáveis também pela perda de algo em torno de 20 a cada 100 litros de água utilizada no processo cervejeiro (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014).

Cada vez se faz mais necessária a bioconversão de resíduos nas cadeias agroindustriais, pois muitas vezes apresentam alta carga orgânica e nutricional, e em contrapartida, baixo custo de aquisição. A reutilização de resíduos em processos biotecnológicos se torna extremamente interessante. Além de alinhar a possibilidade da utilização de um subproduto economicamente viável para geração de um produto de maior valor agregado, também soluciona problemas ambientais (COSTA, 2017).

3.4.1 Bagaço de Malte

O bagaço de malte é o resíduo gerado no processo de maior volume, cerca de 14 a 20 kg de bagaço para cada 100 L de cerveja produzida, representando cerca de 85% dos resíduos totais da indústria cervejeira (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014). Pode ser benéfico tanto para o ser humano por apresentar composição próxima a outros alimentos consumidos no nosso dia a dia, como para os animais, pois pode contribuir na sua alimentação por ser rico em proteína, vitaminas, minerais e umidade (FERREIRA, 2017).

3.4.2 *Trub* Quente

O lúpulo é obtido a partir das inflorescências feminina de uma planta diótica, pertencente à ordem das Rosales e à família *Cannabaceae* (DURELLO; SILVA; BOGUSZ JUNIOR, 2019), e nelas são encontradas substâncias como polifenóis, resinas e óleos essenciais (WANNENMACHER; GASTL; BECKER, 2018). Cerca de 85% dos componentes do lúpulo não são solubilizados no mosto, indicando assim que estes podem estar precipitando juntamente com outros componentes fenólicos e com proteínas, e serem removidas com o *trub* (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014).

Existem dois tipos de *trub*: o quente (ou grosso) e o frio (ou fino). O quente é retirado após a fervura, e o frio após a maturação. Este resíduo é responsável por 0,2 a 0,4 kg de resíduo para cada 100 L de cerveja produzida. O *trub* quente é formado por pequenos flocos insolúveis, predominantemente proteicos, que se aglomeram, arrastam e precipitam compostos do mosto para o fundo da tina de mostura (COSTA, 2017). Outros fatores influenciam a formação do *trub* além do conglomerado proteico, como a presença de cátions, em especial o Ca^{2+} , de compostos de lúpulo não solubilizados, de polifenóis e de carboidratos não hidrolisados na mostura (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014), tipo de cevada, tipo de moagem, tempo e outros fatores controlados do processo (COSTA, 2017).

Apesar de apresentar variações em sua composição, pode-se generalizar que o *trub* é constituído da seguinte forma: 50 a 70% de proteínas, 10 a 20% substâncias que não foram solubilizadas do lúpulo, 5 a 10% de polifenóis, 4 a 8% de carboidratos, 3 a 5% de minerais e 3 a 5% de ácidos graxos (COSTA, 2017).

O *trub* vem sendo pouco estudado para aplicações biotecnológicas (COSTA, 2017). Atualmente, além da utilização como ração animal, pode-se citar o estudo da utilização do *trub* como fertilizante devido ao seu elevado conteúdo de compostos nitrogenados (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014).

3.4.3 Levedura Residual

A levedura residual é o terceiro resíduo formado no processo cervejeiro, e aparece na proporção de 1,5 a 3 kg para cada 100 L de cerveja. Observa-se na literatura a ênfase da possibilidade de utilização da biomassa de leveduras residuais da indústria cervejeira na indústria alimentícia. Esta se apresenta principalmente como complemento nutritivo, e como componente flavorizante, mantendo seus valores nutritivos e propriedades funcionais (CARVALHEIRO et al, 2019). As leveduras residuais podem ser aplicadas também em novas bateladas produtivas, com limite de reuso, para prevenir que prejudique a qualidade da cerveja (MATHIAS; MELLO; SÉRVULO, 2014).

3.5 COSMÉTICOS

A resolução da Diretoria Colegiada número 07 de 10 de fevereiro de 2015, anexo I, define produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes: “são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado” (ANVISA, 2015).

Grande parte dos cosméticos são comercializados para aplicação na pele. A pele funciona como uma barreira protetora entre o meio interno e externo (SIQUEIRA, 2016) e é considerado o maior órgão do corpo humano, compreendendo cerca de 7 a 16% do seu peso total. Também chamada de membrana cutânea, a pele apresenta funções essenciais para a vida como a regulação da temperatura corporal, síntese de vitamina D, excreção e absorção de substâncias (GUEDES, 2018).

3.5.1 Formulações Cosméticas

Atualmente no Brasil a indústria cosmética vem se mostrando grande contribuinte para a economia como um todo, pois gera empregos, e reduz desigualdades regionais a partir da exploração sustentável das espécies do bioma nacional. A movimentação mundial em torno da adoção de tecnologias de produção mais limpas, que sejam econômicas e ambientalmente corretas vem crescendo cada vez mais, assim, a escolha da matéria-prima se torna uma etapa muito relevante (GALEMBECK, CSORDAS, 2009)

A etapa da escolha da matéria-prima é considerada crucial por representar cerca de 65% do custo direto da produção de um cosmético (GALEMBECK, CSORDAS, 2009). Assim, ao longo das últimas décadas se intensificou a busca por matérias-primas não previamente utilizadas para a indústria cosmética (GALVÃO, 2015). O mercado dá uma grande importância para a origem da matéria-prima, e se esta foi obtida de forma sustentável e responsável (GALEMBECK, CSORDAS, 2009). Dentro do ramo dos cosméticos, as três características chave na categoria *skin care* (cuidados com a pele) são: os ingredientes serem naturais, não serem testados em animais, e serem ingredientes orgânicos (FLOR; MAZIN; FERREIRA, 2019).

3.5.2 Tipos de Formulações Cosméticas

Pode-se classificar os produtos cosméticos de acordo com dois critérios: suas funções e sua forma. As funções podem ser higienizar, conservar, reparar e maquilar. Sua forma cosmética pode ser creme, leite ou loção cremosa, loção, gel, espuma (mousse), aerossol, suspensão, pó, serum e emulsão (SIQUEIRA, 2016).

Os cosméticos podem ser aplicados em inúmeras regiões do corpo humano, como pele, cabelos, boca e lábios, olhos, pés, mãos, unhas, e até outras regiões mais específicas como pescoço, axilas, seios, região glútea, e virilha (GALEMBECK, CSORDAS, 2009). Em uma formulação cosmética pode-se encontrar algumas substâncias como excipiente, princípios ativos, conservantes, corretivos, corantes e pigmentos, perfumes ou óleos essenciais. O excipiente é um ingrediente inerte que confere consistência a formulação. Os princípios ativos são substâncias que

efetivamente atuam e promovem modificações sobre a região em que o cosmético será aplicado. Os conservantes protegem o produto de contaminações e oxidações, aumentando seu prazo de validade. Os corretivos corrigem a fórmula conforme o efeito buscado. Os corantes buscam produzir sensações visuais, e os perfumes as sensações olfativas ao usuário (REBELLO, 2019)

Dentre os tipos de cosméticos temos as máscaras faciais, que são produtos de fácil aplicação e remoção que buscam trazer efeitos relacionados às substâncias ativas de sua formulação à pele que será aplicada. Estes efeitos podem ser adstringentes, calmantes, relaxantes, nutritivos e emolientes. Podem se apresentar em diversas formas como géis, pós, líquidas/úmidas, ceras, pastas e plásticas. As úmidas não formam película nem secam, as plásticas formam uma película plástica removida integralmente, e as ceras são oclusivas, formando uma ação tensora sobre a pele auxiliando na hidratação (REBELLO, 2019). O pH da máscara utilizada deve ser compatível com o tipo de pele em que está sendo aplicada, como mostra o quadro 1.

Quadro 1 - Faixa de pH de cada tipo de máscara facial

Tipo de máscara	Faixa de pH
Máscaras adstringentes	5,0 – 5,5
Máscaras para pele normal	5,0 – 6,0
Máscaras nutritivas/calmantes	Ligeiramente ácido a neutro

Fonte: Adaptado de Rebello (2019)

3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

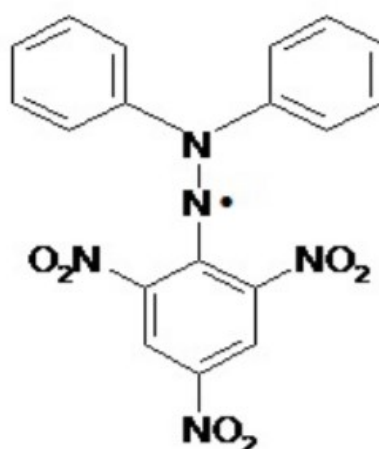
Atualmente, a busca pela união da utilização dos ativos da biodiversidade brasileira com a preocupação com a saúde e a estética, tem motivado o estudo de novas formulações cosméticas. Substâncias oxidantes, principalmente os radicais livres, são os principais responsáveis pelo envelhecimento e por diversas doenças de pele. O sol emite radiações eletromagnéticas, e dentre elas a radiação ultravioleta é a principal responsável pelo fotoenvelhecimento e pelo câncer de pele, pois age gerando radicais livres (AGUIAR; NOVELLI, 2020).

Os radicais livres são espécies químicas extremamente instáveis e reativas, pois em sua órbita mais externa não apresentam pares de elétrons emparelhados. Tanto de ordem exógena como endógena, os antioxidantes têm capacidade de

retardar ou prevenir que os radicais livres se formem (COSTA, 2017). Utilizam-se produtos como extratos vegetais, flavonoides e vitaminas em formulações cosméticas, pois trazem substâncias antioxidantes, os quais são de extrema importância na defesa celular contra oxidantes endógenos e exógenos (CASTRO, 2014).

O método mais utilizado para analisar o poder antioxidante de um composto é o espectrofotométrico *in vitro* do radical livre DPPH* (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), pois possui alta precisão, reprodutibilidade e simplicidade. Este radical é uma molécula estável e possui absorção em um comprimento de onda de 516 nm. Para ser realizado o ensaio, deve-se provocar uma mudança de coloração, inicialmente púrpura para amarelo esvaecido. Essa mudança ocorre a partir da redução do DPPH*, e pode ser monitorado pela queda da absorbância (COSTA, 2017). A estrutura do radical livre DPPH* está representada na figura 2.

Figura 2 - Estrutura do radical livre DPPH*

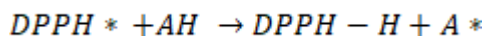


Fonte: Oliveira (2015)

De forma geral, radicais livres são extremamente instáveis e reativos, porém o DPPH* se mostra como um radical livre estável, devido a sua estrutura possuir três anéis aromáticos que estabilizam a carga eletrônica do radical através da ressonância. Existem dois mecanismos de reação para o método DPPH*, sendo um pela transferência de elétrons e outro pela transferência de hidrogênio entre o antioxidante e o radical DPPH* (OLIVEIRA, 2015).

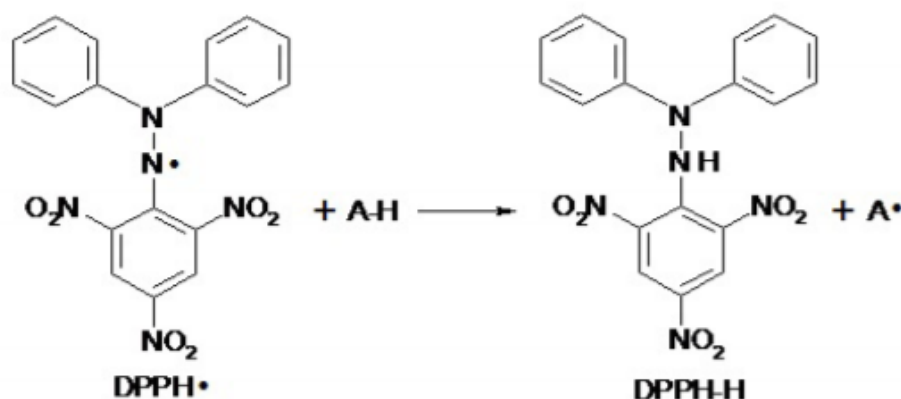
- Equação do mecanismo de transferência de elétrons: $DPPH^* + H^* \rightarrow DPPH - H$

- Equação do mecanismo de transferência de hidrogênio:



Na figura 3 pode-se observar este último mecanismo, o de transferência de hidrogênio.

Figura 3 - Mecanismo de reação através de um átomo de hidrogênio entre um antioxidante e o radical DPPH*



Fonte: Oliveira (2015)

O método DPPH tem a capacidade de prever o potencial antioxidante de uma substância. Acredita-se que se a substância ou extrato utilizado no ensaio tem capacidade de estabilizar o radical DPPH*, também terá esta capacidade antioxidante na pele, ou seja, capacidade de controlar, combater ou postergar o envelhecimento cutâneo agindo contra os radicais livres presentes (SOUZA, 2013).

3.7 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são substâncias bioativas encontradas no reino vegetal, sendo extensamente estudados devido a seus benefícios a saúde e bem-estar humano. Nas plantas, origina-se nos metabolismos secundários, e têm papel essencial em seu crescimento, reprodução e pigmentação (COSTA, 2017). Formados por no mínimo um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxilas, podem se apresentar como moléculas simples, de baixo peso molecular, até moléculas mais complexas, com alto peso molecular (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

A utilização de plantas para o uso terapêutico é tão antiga quanto a existência da espécie humana. Entretanto, nas últimas duas décadas obteve-se um crescimento extremamente considerável nos estudos científicos de extratos brutos, de componentes, de frações, ou da modificação de plantas (HENRIQUE; LOPES, 2017). Atualmente, diversos estudos mostram os compostos fenólicos e flavonoides como substâncias que possuem atividade antioxidante, sugerindo sua utilização em formulações buscando a prevenção e tratamento dos danos causados pelos radicais livres na pele (FRIES; FRASSON, 2010). Há também uma correlação entre os compostos fenólicos e a ação anti-inflamatória, antimicrobiana, hipolipidêmica e anticarcinogênica (HAIDA et al., 2015).

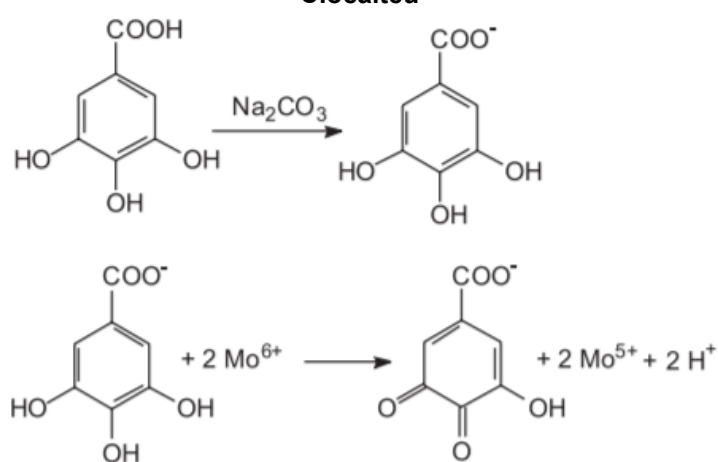
No lúpulo, os metabólitos secundários são classificados em três frações, de acordo com suas propriedades: óleos essenciais, resinas e polifenóis. A primeira fração, a dos óleos essenciais, têm como principais constituintes o mirceno, β -cariofileno e o α -humuleno. Na fração de resinas, tem-se as resinas moles (solúveis em hexano), e as resinas duras (insolúveis em hexano). As resinas duras são constituídas por chalconas e flavononas preniladas, sendo o xanthohumol seu principal constituinte. Já a fração dos polifenóis constitui-se por ácidos carboxílicos aromáticos e flavonoides não prenilados (COSTA, 2017). Os compostos polifenólicos são classificados de acordo com sua estrutura química em: flavonoides, chalconas, estilbenos, lignanas e taninos (WANNENMACHER; GASTL; BECKER, 2018).

A maior parte dos compostos fenólicos é encontrada na natureza sob a forma de ésteres ou de heterosídeos, e por este motivo a maioria dos estudos que desejam obter os compostos fenólicos realizam sua extração em água ou em solventes orgânicos (MURAKAMI, 2010).

Para a quantificação dos compostos fenólicos de um composto pode-se utilizar uma variedade de métodos, com destaque para o método de Folin-Ciocalteu na determinação de compostos fenólicos totais (COSTA, 2017). O método objetiva detectar todas as classes de compostos poli-hidroxifenólicos. Como o reagente de Folin-Ciocalteu também reage com alguns compostos não fenólicos que apresentam atividade antioxidante, pode-se dizer que ele determina a capacidade antioxidante total (ROCHA et al., 2020). Este método se baseia na oxidação dos polifenóis da amostra, através da redução de um reagente. O reagente de Folin-Ciocalteu é composto por uma mistura de ácidos de tungstênio e molibdênio que reage

formando complexos fosfomolibdico-fosfotúngsticos como produtos. Essa reação resulta numa mudança de coloração do reagente de amarelo para azul, através da transferência de elétrons a pH básico, formando óxidos de tungstênio e molibdênio. A intensidade da coloração azulada permite que seja feita a determinação do número de grupos hidroxilas das moléculas (CORTEZ et al, 2018) ou de grupos potencialmente oxidáveis, e absorve entre 620 e 740 nm com 725 nm máximo de comprimento de onda (COSTA, 2017).

Figura 4 - Reação do ácido gálico com o molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu



Fonte: Oliveira et al (2009)

Apesar de não se mostrar como um método específico, o método do reagente de Folin-Ciocalteu é capaz de detectar todos os grupos fenólicos presentes no extrato, assim como proteínas extraíveis (COSTA, 2017). A utilização de compostos fenólicos se mostra muito interessante na composição de produtos dermatológicos, assim, acredita-se que, se a substância ou extrato utilizado no estudo tem capacidade de reduzir o reagente de Folin-Ciocalteu, pode-se dizer que trará os benefícios dos compostos fenólicos para a pele (FRIES; FRASSON, 2010).

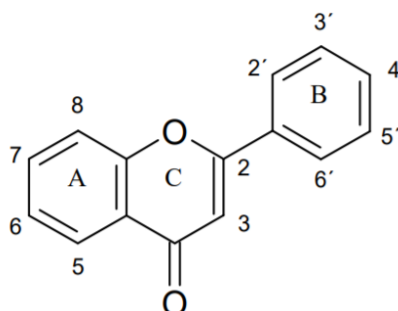
3.7.1 Flavonoides

Atualmente existe uma tendência de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) da ação biológica dos flavonoides, e sua utilização como composto bioativo em medicamentos fitoterápicos. Diversos estudos apontam também a utilização de extratos vegetais que contêm flavonoides na prevenção e tratamento dos danos

causados a pele por fatores externos e internos (HENRIQUE; LOPES, 2017). Estudos epidemiológicos vêm sugerindo efeitos satisfatoriamente positivos dos flavonoides para a saúde do ser humano, trazendo uma gama de benefícios por apresentar efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios, antiangiogênicos, analgésicos, antialérgicos, hepatoprotetores, anticarcinogênicos e estrogênicos (KARABIN et al., 2015).

Sua estrutura básica consiste em dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três carbonos. Os três anéis são passíveis de substituição por grupos metila, prenila, isoprenila e metoxi. Quanto mais grupos hidroxila e ligações glicosídicas, maior é a solubilidade do flavonoide. A atividade biológica dos flavonoides está diretamente ligada a sua estrutura química, assim, até as mais pequenas modificações em sua estrutura podem causar a variação em sua atividade (KARABIN et al., 2015). Na figura 5 tem-se a representação da fórmula estrutural de um flavonoide.

Figura 5 - Estrutura geral de um flavonoide



Fonte: Antunes et al (2004)

Dentre os flavonoides destaca-se como mais importante e estudado na literatura o xanthohumol. Na cerveja, há uma baixa concentração de xanthohumol, cerca de apenas 0,15 mg/L, e isso se dá por sua baixa solubilização e extração deficiente no mosto. Assim, grande parte do xanthohumol presente no processo é arrastado e depositado juntamente com o *trub* quente (MUDURA; COLDEA, 2015). Após estudos *in vitro* onde eliminou grande parte de microrganismos presentes, o xanthohumol foi considerado um agente quimiopreventivo de câncer de ampla atuação (SANTANA; NASCIMENTO JUNIOR, 2020).

Existem diversas metodologias para a determinação de flavonoides de uma amostra, porém a espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta visível

(UV-Vis) é uma das mais pertinentes por sua facilidade de execução, rapidez e baixo custo (COSTA, 2017). Este método colorimétrico consiste na utilização do cloreto de alumínio (AlCl_3), de coloração amarela, pois forma complexos estáveis através do íon alumínio Al^{3+} com os flavonoides. O método se torna interessante pois evita a interferência de outras substâncias fenólicas presentes nos resultados finais. Sendo os flavonoides considerados componentes extremamente interessantes em aplicações cosméticas, acredita-se que se o cloreto de alumínio formar complexos estáveis com os flavonoides presentes nas substâncias ou extratos analisados, tem-se indicativo de que pode trazer seus benefícios para a formulação cosmética (COIMBRA, 2019).

3.8 TOXICIDADE

A utilização de plantas ou de seus extratos no desenvolvimento de produtos cosméticos faz com que seja importante a realização de ensaios de toxicidade para verificar a segurança de sua utilização. O desenvolvimento de ensaios *in vitro* vem sendo estimulados para que seja possível que esta determinação ocorra de forma confiável, sem que o produto em questão seja testado em animais (ROSA et al., 2016).

O método que utiliza a *Artemia salina* pode ser aplicado em ensaios de toxicidade aguda, buscando determinar a atividade biológica de extratos e frações obtidas a partir de produtos naturais (MERINO et al., 2015). Este método é frequentemente utilizado por ser rápido, confiável e de baixo custo (HYACIENTH; ALMEIDA, 2015). A *Artemia salina* é uma espécie de micro crustáceo encontrado em águas salgadas, e possui facilidade de reprodução, favorecendo assim seu uso. Este organismo tem a capacidade de formar cistos dormentes, e é utilizada em laboratórios como bioindicador, pois apresenta uma resposta nítida quando submetida a pequenas variações de qualidade do ambiente. Assim, o grau de letalidade ou não letalidade do organismo tem sido utilizado para a identificação de respostas biológicas (RIBEIRO et al., 2019).

A metodologia de Meyer et al. (1982) é referência para determinação da toxicidade frente a *Artemia salina* de um extrato ou fração obtida de produtos naturais. Consiste em eclodir os ovos de *Artemia salina* e os colocar sob a ação da

amostra em estudo. Após um tempo, determina-se a quantidade de organismos vivos e mortos através da observação de inatividade do organismo. Os dados são expressos como CL₅₀, conhecido como concentração letal média. A relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média (CL₅₀) apresentada sobre extratos de plantas sobre as larvas de *Artemia salina* está demonstrada no quadro 2.

Quadro 2 - Relação entre grau de toxicidade e a concentração letal média (CL₅₀)

Grau de toxicidade	Faixa de concentração letal média (CL ₅₀) em µg/mL
Atóxicos	Superior a 1000
Baixa toxicidade	Entre 500 e 1000
Moderada toxicidade	Entre 100 e 500
Muito tóxicos	Inferior a 100

Fonte: Adaptado de Hyacienth e Almeida (2015)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA DO MATERIAL E OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

O *trub* quente foi coletado na microcervejaria artesanal Strassburguer, localizada nas proximidades da cidade de Ponta Grossa do Paraná, no primeiro semestre de 2021. O procedimento de obtenção das amostras foi adaptado de Costa (2017). Após a coleta, o material foi transportado para a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa, filtrado e colocado na estufa a 50 graus Celsius. Após 24h na estufa foi retirado e moído até estado de pó fino em um liquidificador.

A extração dos compostos bioativos foi realizada pela adaptação da metodologia de Sari (2016), utilizando a água como solvente. Adicionou-se 1g de material para 150mL de água, o qual foi submetido a agitação em um shaker a 60 °C e 150 rpm por 24 horas. Em seguida, os extratos foram transferidos para tubos falcon e centrifugados a 500 rpm durante 15 minutos. Após esse tempo, retirou-se o sobrenadante e o utilizou como amostra para os testes posteriores.

4.2 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado através do método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu, adaptado de Granato (2016) e Rufino (2007).

Como padrão foi utilizado o ácido gálico. Pesou-se 5 mg do ácido gálico monoidratado, que foi diluído com 5mL de etanol e completado em um balão volumétrico para 25 mL com água destilada, obtendo uma concentração de 200 mg/L.

Para a preparação da solução mãe de Folin-Ciocalteu, diluiu-se 33,3 mL de reagente Folin-Ciocalteu com 66,7mL de água destilada.

A partir da solução-mãe de Folin-Ciocalteu, preparou-se diluições para 20, 60, 100, 140 e 200 mg ácido gálico/mL para formação da curva de calibração.

O procedimento foi feito em triplicata. Adicionou-se 150 μ L extrato + 2400 μ L água + 150 μ L Folin-Ciocalteu, deixado em repouso por 3 minutos, e em seguida, adicionado 300 μ L de carbonato de sódio 10%. Após esse processo, deixou-se as amostras em repouso em ambiente escuro por 1 hora, e após esse tempo foi feita a leitura no espectrofotômetro em 725nm.

Por meio do valor de absorvância e pela equação da reta obtida da curva de calibração, foi possível obter o valor de concentração do ácido gálico, e assim, o teor dos compostos fenólicos totais foi determinado em termos de ácido gálico equivalente.

4.3 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE – MÉTODO DPPH

O teor de atividade antioxidante foi determinado a partir do método adaptado de Granato & Nunes (2016) e Rufino et al. (2007). Para a solução de DPPH, dissolveu-se 2,4 mg de DPPH em álcool metílico 50% em um balão volumétrico de 100 mL, completou-se com água destilada, e foi homogeneizado e armazenado em ambiente escuro até sua utilização.

Para a solução de álcool metílico a 50%, foi preparada uma solução de 500 mL de álcool metílico e 500 mL de água destilada, homogeneizado em um frasco de vidro e armazenado em temperatura ambiente.

Para a determinação da atividade antioxidante foram preparadas 5 concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 μ M) em triplicata de DPPH, usando álcool metílico para a diluição.

Em triplicata, foi adicionado 3,9 mL de cada concentração das soluções de DPPH em tubos de ensaio, juntamente com 0,1 mL de amostra. Após 30 minutos foi feita a leitura no espectrofotômetro a 515 nm de cada tubo de ensaio, para a preparação do gráfico de concentração pela absorbância, usado para calcular os valores de concentração necessária da amostra para reduzir o DPPH em 50 % (EC_{50}), por regressão linear.

4.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS

Para determinar o teor dos flavonoides totais, adaptou-se a metodologia de Burda (2001), Chang (2002), Dowd (1959) e Markham (1982). Os extratos da amostra foram preparados em metanol, sob proteção da luz, em uma concentração final de 2,5 mg/mL de metanol.

A quercetina, utilizada como padrão, foi preparada sob proteção da luz em balão volumétrico dissolvendo 10 mg de quercetina, 5 mL de metanol, resultando numa concentração de 2000 mg/L. Em seguida efetuou-se diluições para se chegar em concentrações entre 0-100mg/L, leu-se as absorbâncias em espectrofotômetro UV-Vis a 420 nm, para construir a curva de calibração.

O procedimento foi realizado em triplicata. Em 500 μ L da solução de extrato da amostra teste adicionou-se 250 μ L da solução de cloreto de alumínio 5% (v/v em metanol) e 4,25 mL de metanol. Agitou-se os tubos, e manteve-os em temperatura ambiente e sob proteção da luz por 30 minutos.

Leu-se as absorbâncias das amostras em espectrofotômetro UV-Vis a 420 nm, e a partir da curva de calibração da quercetina pode-se determinar o teor de flavonoides totais da amostra.

4.5 DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE

A determinação da toxicidade do extrato do *trub* visa quantificar a concentração letal média (CL₅₀) deste extrato frente ao organismo *Artemia salina*. A partir da metodologia adaptada de Meyer et al. (1982), primeiramente obteve-se as larvas do organismo a partir da eclosão dos seus cistos. Foram incubados os cistos em béqueres em solução marinha sintética (35 g de sal marinho/1 L de água destilada) por 48 horas em condições de luz controlada, a temperatura ambiente de 25 °C.

Após as primeiras 24 horas alimentou-se os náuplios com solução de levedura, composta por 0,6g de levedura em 100mL de água salina. Os náuplios foram alimentados com 1,5mL para cada 100 mL de água. Preparou-se quintuplicas de soluções de concentrações 10, 100 e 1000 µL/mL da amostra de extrato de *trub* em microplaca de poços, e quintuplicas de branco, composto apenas por água salina. Essas concentrações são baseadas na escala de toxicidade mostrada no quadro 2 que mostra que resultados de CL₅₀ menores que 100 µL/mL considera a amostra toxica, e acima de 1000 µL/mL é considerada atóxica. Adicionou-se 10 artêmias em cada poço, com auxílio de uma pipeta de Pasteur. Incubou-se a placa de poços por 24 horas a 25 °C. Após este tempo, foram contados os organismos sobreviventes de cada poço com o auxílio de um microscópio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O *trub* foi coletado na cervejaria, e na figura 6 podemos ver o resíduo logo após o processo de *whirpool* (redemoinho do mosto) do processo cervejeiro, no fundo da tina de mostura.

Figura 6 - Trub no fundo da tina de mostura



Fonte: Autoria própria

Figura 7 - Trub em frascos para congelamento



Fonte: Autoria própria

Após o tempo na estufa e posterior moagem do material, ele se mostrou um resíduo granuloso e fino, conforme figura 8.

Figura 8 - Trub seco e moído



Fonte: Autoria própria

Pós a extração aquosa as amostras estavam prontas para a realização dos testes, como mostra a figura 9, com concentração de 6,67 mg amostra/mL.

Figura 9 - amostra após extração aquosa do trub



Fonte: Autoria própria

5.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

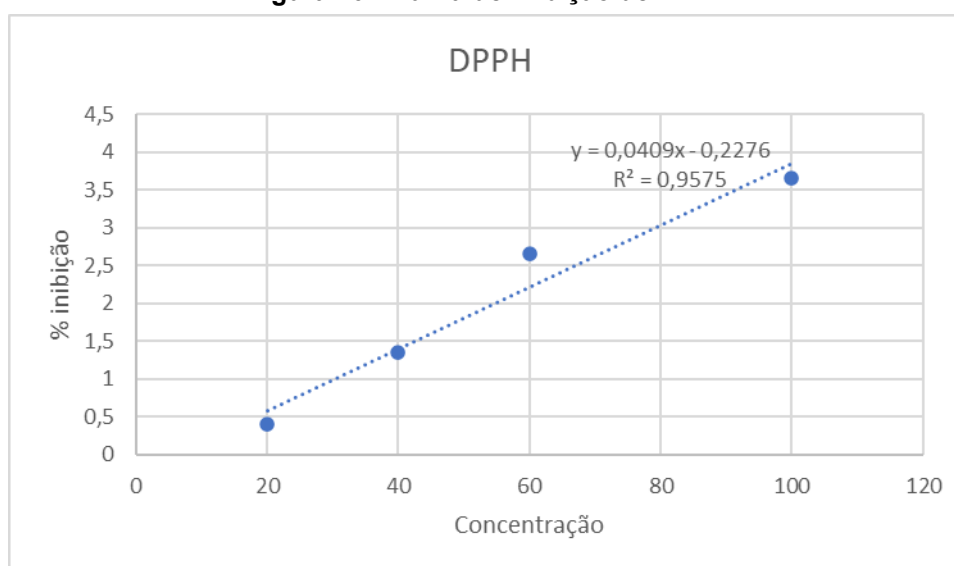
No quadro 4 estão apresentados os dados da curva padrão de inibição de DPPH, e na figura 10 o gráfico de % de inibição de DPPH pela concentração da amostra.

Quadro 3 - Dados da curva padrão de inibição de DPPH

Concentração (mg/mL)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	% inibição
20	0,565	0,56	0,563	0,563	0,413
40	0,557	0,558	0,557	0,557	1,357
60	0,549	0,551	0,55	0,550	2,655
100	0,545	0,545	0,543	0,544	3,657

Fonte: Autoria própria

Figura 10 - Curva de inibição de DPPH



Fonte: Autoria própria

A concentração de eficiência 50% (EC_{50}) expressa a concentração mínima de antioxidante necessário para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Desta forma, substituímos 50% no y na equação de regressão linear, chegando em uma concentração de 1228,06 mg/mL. Quanto menor o valor de EC_{50} , maior será a atividade antioxidante do extrato.

Ribeiro et al. (2020) realizou o ensaio de DPPH em uma cerveja de fabricação artesanal, a qual apresentou EC_{50} de $56,49 \pm 0,39$ mg/mL. Costa (2017) avaliou o *trub* em diferentes extrações, e encontrou valores de 1,29 mg/mL para

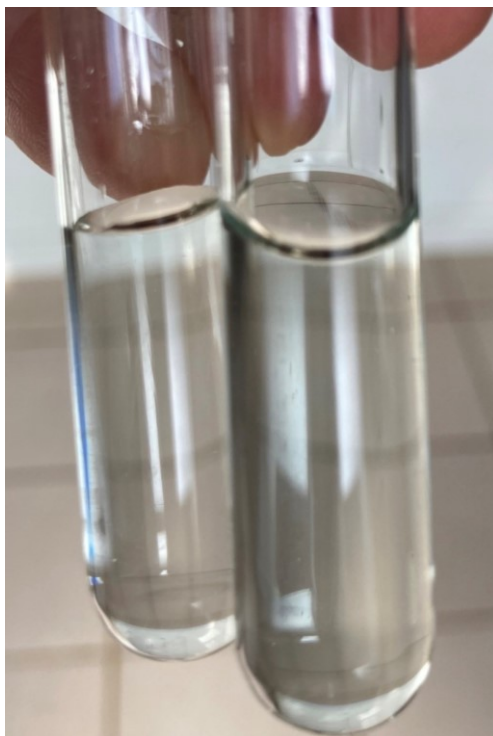
extração em etanol, 8,11 mg/mL para extração em butanol, 3,08 mg/mL para extração em acetato de etila, e 7,28 para extração em hexano. Lora (2014) testou o bagaço de uva, que é um produto da indústria de produção de vinho que possui um processo que se assemelha ao cervejeiro, no ensaio de DPPH. Utilizando uma extração etanólica como amostra, chegou em resultados de 5,05 a 6,54 mg/mL.

A extração em água do *trub* utilizado neste trabalho apresentou valores de EC50 muito acima de valores referenciados em outros trabalhos. Assim, podemos considerar que a atividade antioxidante dessa extração não foi satisfatória, o que pode ter sido devido a água não ser o melhor extrator para esses compostos, e também que o processo da secagem do *trub* na estufa e posterior moagem possa ter feito com que os compostos bioativos estudados fossem perdidos.

5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

A aparência da amostra após a análise se encontra na figura 11 sendo o branco o da esquerda, e com o extrato o da direita.

Figura 11 - amostra após análise do método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu



Fonte: Autoria própria

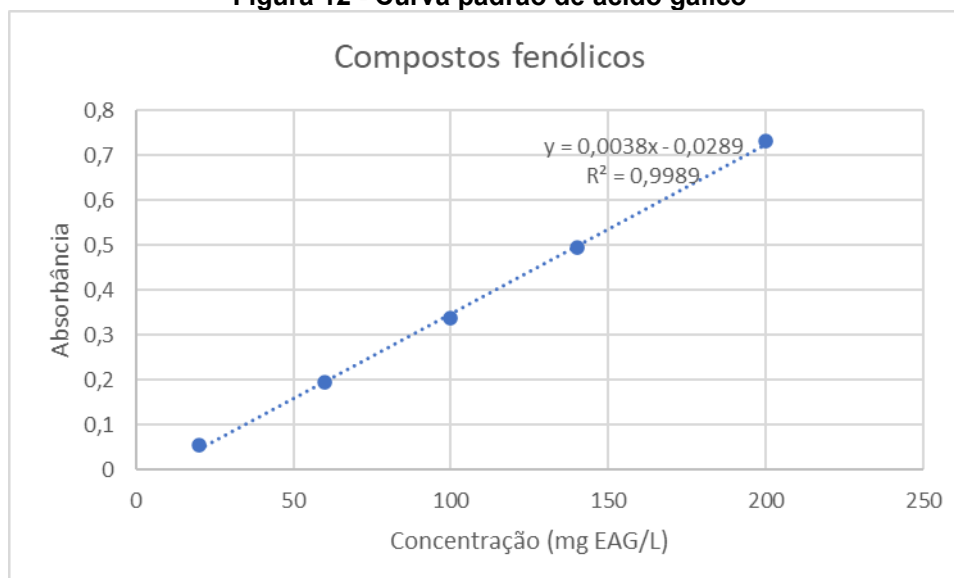
No quadro 6 temos os dados da curva padrão de ácido gálico, e em seguida, na figura 12 a própria curva da amostra.

Quadro 4 - Dados da curva padrão de ácido gálico

Concentração (mg Ácido Gálico/mL)	Absorbância 1	Absorbância 2	Absorbância 3	Média das absorbâncias
20	0,053	0,06	0,054	0,0557
60	0,187	0,2	0,198	0,195
100	0,332	0,341	0,338	0,337
140	0,468	0,504	0,51	0,494
200	0,682	0,771	0,746	0,733

Fonte: Autoria própria

Figura 12 - Curva padrão de ácido gálico



Fonte: Autoria própria

A partir da regressão linear podemos calcular a concentração de ácido gálico equivalente, de acordo com a absorbância da amostra que foi feita em triplicata, como mostra o quadro 7.

Quadro 5 - Dados da curva padrão de ácido gálico

Amostras	Absorbâncias	Resultados	Média
1	0,1	33,921	34,356 ± 0,548
2	0,101	34,184	
3	0,104	34,974	

Fonte: Autoria própria

Assim, a concentração em termos de ácido gálico equivalentes é de 34,36 mg/L, ou 5,154 mg EAG/g de amostra. O método de Folin-Ciocalteu se baseia na oxidação da amostra, ou seja, quanto maior o número de polifenóis presentes, maior o valor de concentração em termos de ácido gálico equivalentes.

Cataneo et al (2006) encontrou níveis de 109,64 a 207,80 EAG mg/100g em extração do bagaço de uva, ou 1,10 a 2,08 mg EG/g de amostra. Ribeiro et al (2020) encontrou 8,2 mg EAG/100g, ou 0,082mg EAG/g, em uma avaliação de compostos fenólicos em uma cerveja artesanal. Lora (2014) testou a quantidade de compostos fenólicos no bagaço de uva utilizando extração etanólica e encontrou valores entre 30,15 a 51,02 mg GAE/g.

A extração em água do *trub* utilizado neste trabalho apresentou valores de ácido gálico equivalente/g de amostra próximos a valores referenciados em outros trabalhos. Assim, podemos considerar que o teor de compostos fenólicos dessa extração foi satisfatório para continuar os estudos desse resíduo, mas seria importante estudar outros tipos de extração e concentrações para confirmação do melhor método de aproveitamento do *trub*, sendo que a atividade antioxidante dele mostrou resultado não satisfatório. Novamente a extração em água pode não ter sido o melhor solvente para retirar todos os componentes interessantes do *trub*, assim como o processo de secagem na estufa e posterior moagem.

5.3 FLAVONOIDES

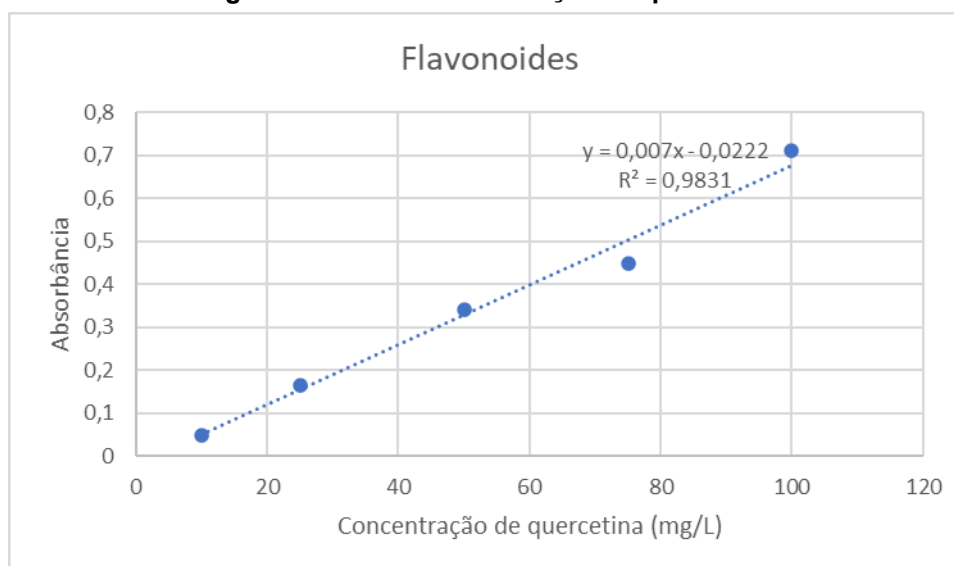
No quadro 8 estão apresentados os dados da curva padrão de inibição de quercetina, e na figura 13 o gráfico de concentração de amostra pela absorvância da quercetina.

Quadro 6 - Dados da curva padrão de flavonoides totais

Concentração (mg/L)	Absorbância Amostra 1	Absorbância Amostra 2	Absorbância Amostra 3	Média absorbâncias
10	0,042	0,053	0,047	0,047
25	0,158	0,155	0,177	0,163
50	0,353	0,316	0,354	0,341
75	0,434	0,45	0,457	0,447
100	0,773	0,701	0,658	0,711

Fonte: Autoria própria

Figura 13 - Curva de calibração de quercetina



Fonte: Autoria própria

A partir da regressão linear podemos calcular o teor de flavonoides totais, de acordo com a absorbância da amostra que foi feita em triplicata, como mostra o quadro 9.

Quadro 7 - Dados da curva padrão de flavonoides totais

Amostras	Absorbâncias	Resultados	Média
1	0,031	7,6	7,410 ± 0,165
2	0,029	7,314	
3	0,029	7,314	

Fonte: Autoria própria

Desta forma, o teor de flavonoides totais da amostra é de 7,4 mg EQ/L (mg de equivalente de quercetina por L de amostra), ou 1,11 mg EQ (equivalente de quercetina)/g de amostra.

Rampazzo (2014) testou 10 cervejas diferentes do mercado, onde atestou que em os flavonoides totais variaram de 49,39 e 219,22 mg EQ/L. Costa (2017) avaliou o *trub* em diferentes tipos de extrações: em etanol encontrou 1,31 mg EQ/g, 1,17 mg EQ/g para extração em hexano, 1,64 mg EQ/g para acetato de etila e 0,019 mg EQ/g para a fração de butanol.

Em um processo semelhante que é o da produção de vinho, o qual gera o resíduo de bagaço de uva, Caetano et al (2006) estudou a extração em acetona

80% do bagaço aquecido a 45 graus, encontrando 106,22 mg EQ/100 g de amostra, ou 1,06 mg EQ/g de amostra.

A extração em água do *trub* utilizado neste trabalho apresentou valores de quercetina equivalente/g muito abaixo quando comparamos com estudo de Rampazzo (2014), porém semelhante ao das outras fontes que consideram alguns resíduos. Assim, faz-se necessário maiores estudos em diferentes tipos de extração e concentrações do *trub* para termos maior assertividade de resultado, considerando também os resultados anteriores de outros compostos bioativos, e levando também em consideração o solvente utilizado e a secagem do *trub* como possíveis causas de valores não tão satisfatórios.

5.4 TOXICIDADE

Após a eclosão dos cistos das artêmias, e posterior incubação de 10 artêmias salina vivas em cada placa de poços, em 5 replicatas foram observados os organismos vivos e mortos.

Figura 14 - Sistema para eclosão das artêmias



Fonte: Autoria própria

Quadro 8 - Organismos vivos adicionados a cada poço da placa de poços

Concentração	10 μL/mL	100 μL/mL	1000 μL/mL	Branco
Organismos vivos Replicata 1	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 2	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 3	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 4	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 5	10	10	10	10

Fonte: Autoria própria

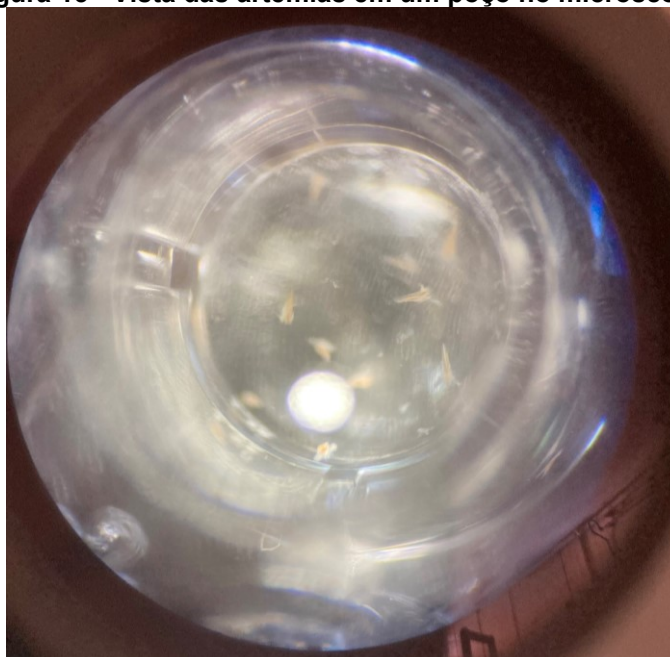
Quadro 9 - Organismos sobreviventes após 24 horas de incubação

Concentração	10 μL/mL	100 μL/mL	1000 μL/mL	Branco
Organismos vivos Replicata 1	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 2	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 3	10	10	10	10
Organismos vivos Replicata 4	10	10	9	10
Organismos vivos Replicata 5	10	10	10	10

Fonte: Autoria própria

Na figura 15 e 16 em que estão dispostas fotos da vista do microscópio onde podemos visualizar pequenos corpos alongados, que são as artêmias após a eclosão dos cistos.

Figura 15 - Vista das artêmias em um poço no microscópio



Fonte: Autoria própria

Figura 16 - Vista da placa de poços no microscópio



Fonte: Autoria própria

A porcentagem de organismos mortos pela concentração da amostra se encontra no quadro 12.

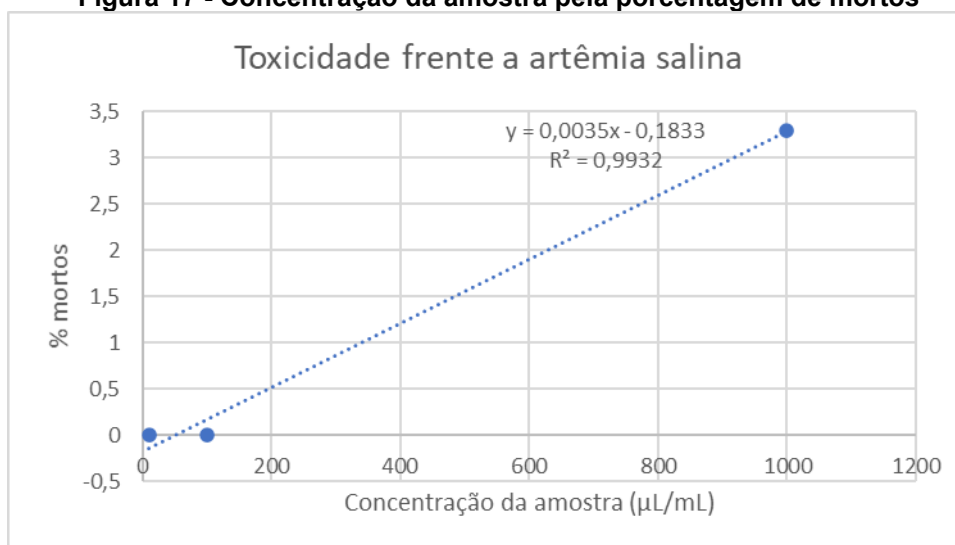
Quadro 10 - % de organismos mortos após 24 horas

Concentração (µL/mL)	Organismos vivos início	Média Organismos vivos após 24h	% mortos
10	10	10	0
100	10	10	0
1000	10	9,67 ± 0,58	3,30

Fonte: Autoria própria

Com esses dados podemos obter o gráfico da relação da concentração da amostra pela porcentagem de organismos mortos.

Figura 17 - Concentração da amostra pela porcentagem de mortos



Fonte: Autoria própria

Avaliou-se a morte das artêmias a partir da premissa que indivíduos em movimento estavam vivos, e sem movimento como mortos. Tivemos um único organismo morto na replicata 4 de maior concentração de amostra. Porém, por ter sido apenas um organismo morto em todas as replicatas não podemos afirmar que a morte foi causada necessariamente pela toxicidade da amostra. A partir da regressão linear, podemos calcular a CL_{50} , que é a dose necessária para matar 50% das artêmias testadas. Obtemos assim a concentração de 14338,09 µL/mL. De acordo com o quadro 2, o qual mostra uma relação entre o grau de toxicidade da amostra e a concentração letal média (CL_{50}), temos que inferior a 100, é considerado muito tóxico, entre 100 e 500 é considerado toxicidade moderada, entre 500 e 1000 baixa toxicidade, e acima de 1000 é considerado atóxico, a amostra tendo obtido uma concentração maior que 1000 µL/mL faz com que a amostra seja considerada atóxica.

5.5 INCORPORAÇÃO DO *TRUB* EM PRODUTOS COSMÉTICOS

Apesar de não ter apresentado bons resultados de poder antioxidante, a amostra trouxe resultados satisfatórios de compostos fenólicos e flavonoides totais quando comparados com resíduos e produtos parecidos na literatura. Levando em consideração esses resultados, podemos dizer que o *trub* possui sim a possibilidade de ser utilizado em uma incorporação cosmética, mas que se faz necessário um

estudo mais assíduo do mesmo em diferentes condições. O solvente utilizado para a extração escolhido foi a água e foi realizado na concentração de 1 g/150 mL, o que pode ter gerado um extrato muito diluído. Poderia ser realizada uma otimização da extração, em que buscasse verificar inclusive se outros fatores do processo de extração poderiam afetar os teores de compostos, como agitação, temperatura e tempo. Os baixos teores de moléculas bioativas encontrados no ensaio de atividade antioxidante realizados não confirmam a ausência desses compostos e outros componentes bioativos no *trub*, o que também nos faz acreditar que os compostos fenólicos e flavonoides podem obter resultados ainda melhores.

Soares et al (2008) cita que o bagaço de maçã gala de base úmida apresentou níveis 5 vezes mais altos de atividade antioxidante do que a base seca, o que nos faz presumir que o processo de secagem do *trub* pode ter gerado perdas e removido parte dos compostos interessantes do material. Segundo Ribeiro (2019) há uma redução na casa dos 28% no teor dos compostos fenólicos ao longo do processo cervejeiro e de 29% da sua atividade antioxidante, o que nos faz sugerir que parte desta perda esteja ocorrendo para o *trub*. Vale ressaltar que tipos de cerveja diferentes apresentam diferentes teores componentes bioativos. O processo cervejeiro utiliza diferentes tipos de maltes, lúpulos, outras matérias-primas e metodologias de produção que variam de acordo com o tipo de cerveja requerido. Isso faz com que alguns *trubs* possam apresentar maior concentração de compostos interessantes para a incorporação cosmética, enquanto outros apresentem resultados mais pobres dessas propriedades.

Podemos também colocar em consideração os estudos citados neste trabalho que mostram que os insumos da produção cervejeira possuem teores interessantes de compostos fenólicos e flavonoides. Torna-se interessante também citar resultados encontrados por Costa (2017), onde o *trub* estudado passou por extração de diferentes solventes que apresentaram resultados semelhantes que os presentes neste trabalho, considerando as mesmas análises. Em termos de toxicidade do material podemos considerar a amostra como atóxica, sendo este um indicativo de possibilidade de utilização em uma incorporação cosmética.

Há uma crescente demanda no mundo atual por produtos certificados como naturais, biocosméticos e orgânicos (OLIVEIRA, 2018), utilizando matérias primas de origem vegetal onde antes era utilizado materiais sintéticos (FILHO; FRANCO, 2015). A possibilidade de utilizar um resíduo com capacidade de incorporação se

torna muito interessante. Temos vários estudos, indicados abaixo, que mostram que resíduos e matérias-primas que possuem características semelhantes ao *trub* podem ser incorporadas em cosméticos com bons resultados de utilização.

O resíduo após seco, como apresentado na figura 7, pode-se mostrar como um grânulo fino e que possui baixa solubilidade, como já citado neste trabalho, o que poderia ter ação esfoliante num cosmético. Barros et al. (2015) mostra que a argila é muito utilizada em cosméticos esfoliantes devido ao seu ponto de fusão, granulometria e minerais que podem influenciar as propriedades de limpeza da pele, hidratação, remoção de células mortas. Ao final do estudo, Barros et al (2015) conclui que as argilas brancas e vermelha possui esfoliação semelhante a um produto comercial de qualidade parecido já consagrado no mercado. Isso nos traz a possibilidade de comparar o *trub* com a argila buscando trazer a característica esfoliante para um cosmético.

Simeone e Filho (2009) citam que frutos de *Ocotea porosa*, conhecida como Imbuia, poderiam ser utilizados em produtos da indústria cosmética por possuir alto teor de proteínas e lipídeos. Almeida et al (2020) sugerem a utilização de algas em formulações cosméticas por possuírem alto teor de proteínas, minerais, vitaminas, ácidos e polissacarídeos. Desta forma, levando em consideração que o *trub* possui, na teoria, teores bons de proteínas, polifenóis, carboidratos, minerais e ácidos graxos, podemos considerar a possibilidade de incorporação também do *trub* num cosmético visando trazer seus benefícios.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato aquoso de *trub* extraído de uma cervejaria artesanal local analisado não apresentou concentrações potenciais de poder antioxidante, mas mostrou teores satisfatórios de compostos fenólicos e flavonoides, e o ensaio de toxicidade mostrou que a amostra pode ser considerada atóxica, e assim pode-se considerar o *trub* como um resíduo com potencial de ser incorporado numa formulação cosmética

7 RECOMENDAÇÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Visto as possibilidades que surgem a partir deste projeto para futuros trabalhos, temos:

- Incorporação do *trub* em uma formulação cosmética, avaliando a estabilidade do produto final;
- Avaliação de diferentes tipos de solventes, metodologias e concentrações para extração do *trub* buscando confiabilidade de resultados em compostos ótimos para produção cosmética;
- Avaliação do melhor tipo de cerveja e do melhor método de produção cervejeira para utilização do *trub* em formulações cosméticas.

8 REFERÊNCIAS

ABOUMRAD, J. P. C.; BARCELLOS, Y. C. M. **Análise e simulação das operações de mostruração e fermentação no processo de produção de cervejas**. 2015. 82 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Departamento de Engenharia Química e de Petróleo) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada** – RDC n^o 07, de 10 de fevereiro de 2015, anexo I. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867685/RDC_07_2015_.pdf/c2a1078c-46cf-4c4b-888a-092f3058a7c7>. Acesso em: set 2020.

AGUIAR, M. A.; NOVELLI, P. H. G. S. **Desenvolvimento de uma formulação cosmética antioxidante e fotoprotetora à base de curcumina**. *Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, v. 12, 2020.

ALMEIDA, A. R. **Compostos bioativos do bagaço de malte: fenólicos, capacidade antioxidante in vitro e atividade antibacteriana**. 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

ALMEIDA, B.K.C.; SILVEIRA; C.C.; CARNEIRO; F.M. **O uso de algas em cosméticos: um estudo cienciométrico**. *Journal of Biology & Pharmacy Agricultural Management*, v. 16, n. 1, jan/mar2020

ARAÚJO, P. H. R. S. **Produção e análise sensorial de cerveja artesanal de caju**. 2019. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, 2019.

BARBOSA-PEREIRA, L.; ÂNGULO, I.; PASEIRO-LOSADA, P.; CRUZ, J. M. **Phenolic profile and antioxidant properties of a crude extract obtained from a brewery waste stream**. *Food Research International*, v. 51, p. 663–669, 2013.

BARROS, M.R.; AZEVEDO, M.G.B.; MAIA, C.S.; FALCÃO, J.S.A. **Esfoliante facial à base de argila e avaliação da eficácia por métodos histológicos e bioquímicos**. *EDUCAÇÃO CIÊNCIA E SAÚDE*, v.2, n.2, Julho a Dez. de 2015.

BIGHETTI, A. E.; SAMPAIO, P, G. **Estudo da atividade antioxidante de uma formulação cosmética**. *Rev. UNINGÁ, Maringá*, v.55, n.3, p 1-13, jul./set. 2018.

BONATO, S. V. **Método para gestão de resíduos na cadeia cervejeira do Rio Grande do Sul**. 2016.103f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

BRASIL. **Decreto no 6.871, de 04 de junho de 2009**. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BURDA, S.; OLESZEK, W. **Antioxidant and antiradical activities of flavonoids**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.49, p.2774-2779, 2001.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. **The Role of Phenolic Compounds in the Fight against Cancer – A Review**. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, v. 13, p. 1236-1258, 2013.

CARVALHEIRO, D.; BERTOLO, A. P.; KEPMKA, A. P.; ALBERTI, L.; VALDUGA, M.; BORGES, M. S.; BIZ, A. P. **Levedura residual cervejeira: características e potenciais aplicações**. Tópicos em Nutrição e Tecnologia de Alimentos. p. 82-88, 2019.

CÉSAR, J.; PAOLI, M. E.; ANDRADE, J. C. **A Determinação da Densidade de Sólidos e Líquidos**. jul 2004. Disponível em: <
http://webeduc.mec.gov.br/portaldoprofessor/quimica/cd2/conteudo/aulas/37_aula/rrecursos/21480/21480.pdf> . Acesso em: 10 out. 2020.

CASTRO, A. C. C. M. **Avaliação do do perfil químico de fenólicos, do potencial antioxidante e fotoprotetor da torta de semente de *Coffea arabica* L. (RUBIACEAE)**. 2014, 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UNESP, Araraquara, 2014.

CHANG, C.C.; YANG, M.H.; WEN, H.M.; CHERN, J.C. **Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods**. Journal of Food and Drug Analysis, v.10, n.3, p. 178-182, 2002.

COIMBRA, E. Q. C. **Compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante de extratos metanólicos de *Senna rugosa***. Manografia. 27 f. Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2019.

CORTEZ, J. D.; FAICÁN, M. A.; PIROVANI, M. E.; PIAGENTINI, A. M. **Determinación de polifenoles en frutas con vitamina C incorporada:**

Metodología para mejorar la especificidad del ensayo de Folin-Ciocalteu. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. V. 19, n. 2, p. 148-158, 2018.

COSTA, F. S. F. **Estudo do resíduo gerado pela indústria cerveja artesanal, trub quente, caracterização fitoquímica e avaliação de atividades antimicrobiana e antioxidante.** 2017. 128 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

DANTAS, V. N. **A trajetória da cultura cervejeira e sua introdução no Brasil.** 2016. 12 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel Interdisciplinar em Ciências Humanas) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2016.

DOWD, L.E. **Spectrophotometric determination of quercetin.** Analytical Chemistry, v.31, n.7, p.1184-1187, 1959.

DURELLO, R. S.; SILVA, L. M.; BOGUSZ JR, S. **Química do lúpulo.** Quim, Nova, v. 42, n. 8, p. 900-919, 2019.

FERREIRA, M. S. B. et al. **Elaboração de biscoito integral empregando resíduo da indústria cervejeira na formulação.** 2017. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

FERREIRA, R.H.; VASCONCELOS, M.C.R.L.; JUDICE, V.M.M.; NEVES J.T.R. **Inovação na fabricação de cervejas especiais na região de Belo Horizonte.** Perspectivas em Ciência da Informação, n.16, p 171-191, 2011.

FILHO, W. B.N.; FRANCO, C. R. **Avaliação do potencial dos resíduos produzidos através do processamento agroindustrial no Brasil.** Revista Virtual de Química, v. 7, n. 6, p. 1968-1987, 2015

FLOR, J.; MAZIN, M. R.; FERREIRA, L. A. **Cosméticos naturais, orgânicos e veganos.** Cosmetics & Toiletries (Brasil), v. 32, mai./jun. 2019.

FRIES, A. T.; FRASSON, A. P. Z. **Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos anti-idade.** Revista Contexto&Saúde, Ijuí, v. 10 n. 19, p. 17-23, jul-dez. 2010.

GALEMBECK, F.; CSORDAS, Y. **Cosméticos: A química da beleza**. Sala de leitura, 2019.

GALVÃO, J. G. **Desenvolvimento de formulação cosmética contendo carreadores lipídicos nanoestruturados à base de manteiga de *Ouratea sp.*: uma estratégia nanotecnológica para o aumento da hidratação cutânea**. 2015. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015.

GUEDES, L. M. **Desenvolvimento, análise cinética e avaliação sensorial em humanos de formulação cosmética contendo polpa de cajá (*spondias mombin* L.)**. 2018. 86 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2018.

GRANATO, D. & NUNES, D, S. **Análises Químicas, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas**. Uma abordagem Teórico-Prática. Elsevier. 2016.

HAIDA, K. S.; HAAS, J.; MELLO, S. A.; HAIDA, K. S.; ABRÃO, R. M.; SAHD, R. **Compostos fenólicos e atividade antioxidante de goiaba (*Psidium guajava* L.) fresca e congelada**. Revista Fitos, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 37-44, jun. 2015.

HENRIQUE, A. S.; LOPES, G. C. **A biodiversidade e a indústria de cosméticos: o uso dos flavonoides contra o envelhecimento cutâneo**. Revista UNINGÁ Review. v. 29, n. 2, pp. 58-63 (jan-mar 2017).

HYACIENTH, D. C.; ALMEIDA, S. S. M. S. **Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* Maas**. Biota Amazônia, v. 5, n.4, p. 4-7, 2015.

LORA, S.R.F. **Avaliação de compostos bioativos e capacidade antioxidante do bagaço de uva**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Campo Mourão-PR, 2014.

KARABIN, M.; HUDCOVA, T.; JELINEK, L.; DOSTALEK, P. **Biotransformations and biological activities of hop flavonoids**. Biotechnology Advances, v. 33, p. 1063– 1090, 2015.

LINHARES, Luiza do Lago. **Avaliação do potencial de aproveitamento do bagaço de malte cervejeiro para obtenção de xarope de glicose**. 2018. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Química, UFRJ. Rio de Janeiro, 2018.

MARKHAM, K.R. **Techniques of flavonoids identification**. London, UK: Academic Press, 1982, 113 p.

MARTINS, V. M. R.; RODRIGUES, M. A. **Produção e tecnologia de cereais: processo de maltagem da cevada**. Jornadas de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócio. Livro de atas. Bragança, p. 37- 49, 2015.

MATHIAS, T. R. S.; MELLO, P. P. M.; SÉRVULO, E. F. C. **Solid wastes in brewing process: A review**. Journal of Brewing and Distilling, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2014.

MEIER-DÖRNBERG, T.; HUTZLER, M.; MICHEL, M.; METHNER, F. J.; JACOB, F. **The Importance of a Comparative Characterization of 121 Saccharomyces Cerevisiae and Saccharomyces Pastorianus Strains for Brewing**. MDPI: Fermentation. v. 41, n. 3, p. 1-25. Suíça, Agosto de 2017.

MERINO, F.J.Z; OLIVEIRA, V.B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A.M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J.D.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O. G. **Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina***. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v. 17, n. 4, supl. III, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B.; et al. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Medica**, [s.l.], v. 45, n. 05, p.31-34, maio 1982. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-971236>.

MILAGRES, F. C. O. **Desenvolvimento e caracterização de cerveja artesanal com umbu**. Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

MUDURA, E.; COLDEA, T. **Hop-Derived Prenylflavonoids and their importance in Brewing Technology: A Review**. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology, v. 72, n. 1, p. 1-10, 2015.

MURAKAMI, Aureanna. **Concentração de compostos fenólicos de extrato aquoso de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil. Dissertação de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias – UFSC, Florianópolis, 2010.**

MUXEL, A. **Fundamentos de Fabricação de Cerveja.** Universidade Federal de Santa Catarina, Blumenau, 2016.

OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH*:** estudo de revisão. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, L. F. **Resíduo do processamento de palmito de pupunha:** estudo físico, químico, tecnológico e toxicológico. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

REBELLO, T. **Guia de produtos cosméticos.** Ed 12, Editora Senac São Paulo, São Paulo, 2019.

REINOLD, M. R. **A filtração da cerveja.** Revista Indústria Cervejeira. 1 ed, set. 2015.

RIBEIRO, B. D. et al. **Microbiologia Industrial: Alimentos.** 1 ed. Vol. 2. Elsevier Editora Ltda, 2018.

RIBEIRO, E.; MARIANO, T.; PEREIRA, V.; SUGAWARA, A. Aveloz - Euphorbiatirucalli: Toxicidade da planta. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 1, n. 2, p. 17, 11 jan. 2019.

RIBEIRO, S.G.O; LIBERATO, M.C.T.C.; AGUIAR, G.C.; PAULA, F.R.; BARBOSA, K.L.; **Elaboração de cerveja com mel de *Apis mellifera* L. florada Aroeira e raiz de gengibre (*Zingiber officinale*) e análise do teor de fenóis totais e atividade antioxidante.** Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 6, n. 9, p.73763-73774, sep. 2020.

RIBEIRO, J.P.; **Avaliação da composição de fenólicos totais, açúcares e proteínas em cervejas artesanais produzidas em Jequié-BA.** Dissertação (Pós-Graduação em Química) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Bahia, 2019.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. **Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado**. Rev. Bras. Frutic. [online]. v.33, n.4, p 1215-1221, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452011000400021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em out 2020.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. **A química da cerveja**. Quím. Nova esc. São Paulo. v. 37, n. 2, p. 98-105, 2015.

ROSA, C.S.; VERAS, K.S.; SILVA, P.R.; LOPES NETO, J.J.; CARDOSO, H.L.M.; ALVES, L.P.L.; BRITO, M.C.A.; AMARAL, F.M.M.; MAIA, J.G.S.; MONTEIRO, O.S.; MORAES, D.F.C. **Composição química e toxicidade frente *Aedes aegypti* L. e *Artemia salina* Leach do óleo essencial das folhas de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC**. Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.18, n.1, p.19-26, 2016.

RUFINO, M. S. M.; et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Comunicado Técnico, 127, p. 1-4. 2007.

SANTANA, V. N.; NASCIMENTO JUNIOR, B. B. **Um estudo de prospecção tecnológica de patentes sobre *Humulus lupulus***. Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (5), 00-00. Data de publicação na Web: 7 de Agosto de 2020.

SARI, RAFAEL. **Otimização da extração de compostos fenólicos e avaliação do potencial antioxidante e antibacteriano das folhas de (*Tabernaemontana catharinensis*)**. Trabalho de Conclusão de Curso. Pato Branco. 2016.

SERAGLIO, S. K. T.; GONZAGA, L. V.; HELM, C. V.; NEHRING, P.; OLIVO, I. S.; FETT, R. **Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e determinação de compostos fenólicos em diferentes sistemas de extração em frutos de pupunha**. Revista CSBEA. v. 1 n. 1, 2015.

SILVA, H. A.; LEITE, M. A.; PAULA, A. R. V. P. **Cerveja e sociedade**. Contextos da Alimentação – Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade. v. 4 n. 2 – Março de 2016. Centro Universitário Senac, São Paulo, 2016.

SILVA, J. B.; COSTA, K. M. F. M. COELHO, W. A. C.; PAIVA, K. A. R.; COSTA, G. A. V.; SALATINO, A.; FREITAS, C. I. A.; BATISTA, J. S. **Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. Flavocincta* do Rio Grande do Norte**. Pesq. Vet. Bras. v. 36, n. 9, p. 874-880, setembro 2016.

SIMEONE, M.L.F, FILHO, A.N.K. **Composição Química do Fruto de Imbuia (*Ocotea porosa*) Nativa do Município de Colombo, PR.** Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo, n. 58, p. 29-34, jan./jun. 2009.

SINDICERV. **O setor em números**, 2020. Disponível em <<https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>>. Acesso em: Agosto de 2020.

SIQUEIRA, J. C. **Avaliação da estabilidade de uma emulsão cosmética cold cream contendo diferentes tipos de ceras.** 2016. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química Industrial). Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2016.

SOUZA, M. C.; SARTOR, C. F. P.; FELIPE, D. F. **Comparação da ação antioxidante de uma fórmula contendo extrato de *Pereskia aculeata* com cosméticos anti-idade presentes no mercado.** Revista Saúde e Pesquisa, v. 6, n. 3, p. 461-477, set./dez. 2013.

TOZETTO, L. M. **Produção e caracterização de cerveja artesanal adicionada de gengibre (*Zingiber officinale*).** 2017. 82 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017.

TRINDADE, S. C. **Incorporação de amora na elaboração de cerveja artesanal.** 2016. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

VIVIAN, A. F.; AOYAGUI, C. T.; OLIVEIRA, D. N.; CATHARINO, R. R. **Mass spectrometry for the characterization of brewing process.** Food Research International, v. 89, p. 281-288, 2016.

WANNENMACHER, J.; GASTL, M.; BECKER, T.; **Phenolic Substances in Beer: Structural Diversity, Reactive Potential and Relevance for Brewing Process and Beer Quality.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. v. 17, p. 953-988, 2018.