

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ÉRIKA PSCHIEDT

GABRIELA CATARINA HOHL MENDES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO *TRUB* QUENTE

PONTA GROSSA

2026

**ÉRIKA PSCHIEDT
GABRIELA CATARINA HOHL MENDES**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO *TRUB* QUENTE

Evaluation of hot trub's antibacterial activity

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do
título de Bacharel em Engenharia Química da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Orientador(a): Prof. Dr. Luciano Fernandes.
Coorientador(a): M.Sc. Luciano Moro Tozetto

**PONTA GROSSA
2026**



[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.

**ÉRIKA PSCHIEDT
GABRIELA CATARINA HOHL MENDES**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO *TRUB* QUENTE

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do
título de Bacharel em Engenharia Química da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Data de aprovação: 23 / junho / 2026

Luciano Fernandes
(Doutorado)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Jean César Marinozi Vicentini
(Doutorado)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Maria Carolina de Oliveira Ribeiro
(Doutorado)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**PONTA GROSSA
2026**

Dedicamos este trabalho às nossas famílias,
que sempre acreditaram nos nossos sonhos.

AGRADECIMENTOS

Nós, Gabriela e Érika, gostaríamos de agradecer profundamente ao nosso orientador Prof. Dr. Luciano Fernandes, pelo apoio e direcionamento fornecido durante a realização desse trabalho e por sua grande empatia e humanidade. Também agradecemos ao nosso coorientador M.Sc. Luciano Tozetto, que nos deu a inspiração para essa pesquisa, além de ser um ótimo mestre cervejeiro.

Também demonstramos nossa gratidão à Prof^a. Dra. Maria Carolina de Oliveira Ribeiro, por todo o suporte e por nos acolher tão bem em seu laboratório. Como a microbiologia não era a nossa área principal de estudo, isso fez toda a diferença. Agradecemos também à Tainá Namie, pela assistência durante as práticas e por ter se tornado uma amiga para nós, deixando tudo mais leve.

Por fim, agradecemos ao doutorando Douglas Mazur, por ter nos permitido compartilhar um pouco de seu conhecimento e ter nos auxiliado imensamente durante esse processo.

Eu, Gabriela, gostaria de agradecer à toda a minha família, que sempre me incentivou a ir em busca dos meus sonhos, mesmo que isso envolvesse ter que ficar distante deles por um tempo. Agradeço principalmente ao meu pai, Celso, que sempre demonstrou todo o orgulho e alegria com as minhas conquistas, desde as mais pequenas, e me incentiva a dar o meu melhor todos os dias, e à minha mãe, Dulce (*in memoriam*), de quem sinto muitas saudades e que tinha como um de seus sonhos me ver chegando até aqui. Ao meu padrinho, Luiz Arthur, ofereço a minha gratidão, por sempre ter me incentivado na leitura e nos estudos, desde que eu era apenas uma criança. Tenho certeza que se cheguei até aqui, foi porque você sempre acreditou em mim. Agradeço aos meus irmãos, William, pelo carinho de sempre e Rodrigo, pela inspiração para cursar Engenharia.

Sou muito grata por todas as amizades que ganhei nessa jornada e àquelas que já estavam comigo antes dela, que vivenciaram comigo todos os momentos, fornecendo suporte e tornando os dias nessa cidade mais alegres. Agradeço ao meu namorado, Alan Vinícius, que conheci durante a faculdade e se tornou um grande parceiro de vida, trazendo a felicidade com a sua companhia. Também agradeço à sua família, que me acolheu com muito carinho e amor. Foram essas as pessoas que permitiram que Ponta Grossa se tornasse o meu lar.

Eu, Érika, gostaria de agradecer à minha família, que mesmo de longe, me acompanhou durante toda a minha graduação, me oferecendo apoio e incentivo. Ao meu pai, Erico, agradeço pelos momentos de descontração, tornando essa trajetória mais leve. À minha mãe, Karin, expressei minha profunda gratidão por ser minha companheira e meu porto seguro. Obrigada por todo amor, cuidado e motivação, mesmo à distância, vocês foram fundamentais para que eu chegasse até essa etapa da minha formação.

Agradeço ao meu namorado, José Henrique, e à sua família, que me acolheram e me trataram com carinho desde o primeiro encontro. Em especial, ao José, por estar ao meu lado em momentos de dificuldade, me dando suporte e encorajamento. Aos meus amigos, agradeço pelo vínculo formado e pelas conversas e risadas do dia a dia.

“Na vida, nada deve ser temido, apenas
compreendido. Agora é hora de compreender
mais para temer menos.”
- Marie Curie
(Curie, 1923)

RESUMO

O *trub* quente é um resíduo cervejeiro de composição variada que tem sua formação durante o processo de fervura do mosto. Se não removido pode interferir na fermentação, sendo essencial para o resultado final da bebida. É pouco aplicado a novos processos industriais, tornando-se um dos principais descartes da operação. Por isso, investigar seu potencial antibacteriano pode promover maior sustentabilidade na fabricação, além de ser uma alternativa promissora no combate a bactérias. O lúpulo é uma matéria-prima da cerveja que ajuda a formar complexos que geram o *trub*, portanto, pode influenciar em suas propriedades. Utilizando o método de hidrodestilação, foi produzido um extrato de lúpulo concentrado por rotoevaporador para comparação com o *trub* quente coletado da produção da cerveja Cascade Single Hop Ale na UTFPR. Com o método de disco-difusão, foi testada a atividade antibacteriana frente à *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Bacillus cereus*. Somente as bactérias Gram-positivas foram inibidas pelo *trub* quente, devido a maior suscetibilidade a substâncias que contém compostos fenólicos e à menor complexidade de sua parede celular. O extrato de lúpulo apresentou baixa atividade inibitória. Foi testada a presença de compostos fenólicos e antioxidantes nas amostras, através dos métodos de Folin-Ciocalteu e captura do radical livre DPPH, respectivamente. O *trub* quente apresentou 148,77 mg EAG L⁻¹ e atividade antioxidante de 900,02 µmol TE L⁻¹; o extrato de lúpulo obteve 56,88 mg EAG L⁻¹ e inibição de 3,87%. De forma geral, a pesquisa demonstrou a aplicabilidade do resíduo no combate a bactérias Gram-positivas e a forte presença de compostos fenólicos e antioxidantes, o que pode reduzir seu descarte e possibilitar sua reinserção na indústria. Porém, são necessários estudos futuros para estabelecer melhorias na extração, conservação e aproveitamento.

Palavras-chave: *trub*; antibacteriano; antioxidante; fenólico; lúpulo.

ABSTRACT

Hot trub is a brewing waste of varied composition that forms during the wort boiling process. If not removed, it can interfere with fermentation, making its removal essential for the final outcome of the beverage. It has limited application in new industrial processes, becoming one of the main wastes of the operation. Therefore, investigating its antibacterial potential can promote greater sustainability in manufacturing, besides being a promising alternative in combating bacteria. Hops are a beer raw material that helps form complexes that generate trub; thus, they can influence its properties. Using the hydrodistillation method, a concentrated hop extract was produced via rotary evaporator for comparison with hot trub collected from the production of Cascade Single Hop Ale at UTFPR. Using the disk-diffusion method, antibacterial activity was tested against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., and *Bacillus cereus*. Only Gram-positive bacteria were inhibited by the hot trub, due to their greater susceptibility to substances containing phenolic compounds and the lower complexity of their cell wall. The hop extract showed low inhibitory activity. The presence of phenolic compounds and antioxidants in the samples was tested using the Folin-Ciocalteu and DPPH free radical scavenging methods, respectively. The hot trub presented 148.77 mg EAG L⁻¹ and an antioxidant activity of 900.02 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$; the hop extract obtained 56.88 mg EAG L⁻¹ and an inhibition of 3.87%. Overall, the research demonstrated the applicability of the waste in combating Gram-positive bacteria and the strong presence of phenolic and antioxidant compounds, which could reduce its disposal and enable its reinsertion into the industry. However, future studies are needed to establish improvements in extraction, preservation, and utilization.

Keywords: trub; anti-bacterial; antioxidant; phenolic; hops.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ácidos presentes no lúpulo	20
Figura 2 – Flavonoides e suas estruturas	23
Figura 3 – Estabilização do radical livre DPPH.....	24
Fotografia 1 – Sistema de hidrodestilação	27
Quadro 1 – Bactérias e seus respectivos meios seletivos	28
Fotografia 2 – <i>Trub</i> Quente Filtrado	31
Fotografia 3 – Crescimento de <i>S. aureus</i> em meio BP.....	33
Fotografia 4 – Crescimento de <i>Salmonella</i> sp. em meio MacConkey	34
Fotografia 5 – Crescimento de <i>E. coli</i> em meio MacConkey	35
Fotografia 6 – Halos de inibição das amostras frente a <i>S. aureus</i>	36
Fotografia 7 – Halos de inibição das amostras frente a <i>B. cereus</i>	37
Fotografia 8 – Halos de inibição das amostras frente a <i>Salmonella</i> sp.....	37
Fotografia 9 – Halos de inibição das amostras frente a <i>E. coli</i>	38
Gráfico 1 – Curva de Calibração de Ácido Gálico	41
Gráfico 2 – Curva de Inibição de DPPH.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ácidos presentes no lúpulo	20
Figura 2 – Flavonoides e suas estruturas	23
Figura 3 – Estabilização do radical livre DPPH	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classes de compostos fenólicos em plantas	22
Tabela 2 –	Adições de lúpulo durante o processo de fervura	26
Tabela 3 –	Curva de calibração de ácido gálico	29
Tabela 4 –	Preparo das soluções padrão de Trolox	30
Tabela 5 –	Valores críticos do Teste Q de Dixon	32
Tabela 6 –	Halos de inibição obtidos pelo método de disco-difusão.....	39
Tabela 7 –	Absorbâncias das amostras de <i>trub</i> e extrato de lúpulo	42
Tabela 8 –	Concentração de fenólicos totais para o <i>trub</i> e o extrato de lúpulo	42
Tabela 9 –	Leitura das amostras de <i>trub</i> quente e extrato de lúpulo no ensaio de DPPH.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	<i>American Pale Ale</i>
ETEs	Estações de Tratamento de Efluentes
A.C.	Antes de Cristo
PUBs	<i>Public Houses</i>
IPA	<i>Indian Pale Ale</i>
<i>ale</i>	Alta fermentação
grupo prenil	3-metilbut-2-en-1-il
UHPLC-DAD-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
CIM	Concentração inibitória mínima
EQ	Equivalente de Quercetina
EMB	Ágar Eosina Azul de Metileno
BP	Ágar Baird-Parker
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
CMIB	Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
TSA	Ágar Triptona de Soja
MYP	Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina
FD	Fator de diluição
Q	Quociente de rejeição
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
TE	Equivalentes de Trolox

LISTA DE SÍMBOLOS

IBU	Unidade Internacional de Amargor
mg EAG L ⁻¹	Miligramas de Equivalentes de Ácido Gálico por litro
μmol TE L ⁻¹	Micromoles de Equivalente de Trolox por litro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Justificativa.....	15
1.2	Objetivo Geral.....	16
1.2.1	Objetivos Específicos	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	História da Cerveja.....	17
2.2	Etapas do processo cervejeiro	19
2.3	Lúpulo	20
2.4	<i>Trub</i> quente.....	21
2.5	Compostos fenólicos.....	22
2.6	Antioxidantes	23
2.7	Bactérias e seus tipos de parede celular	24
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1	Produção da cerveja.....	26
3.2	Produção do Extrato de Lúpulo	26
3.3	Testes antibacterianos	27
3.4	Análise de compostos fenólicos e antioxidantes	28
3.4.1	Determinação de compostos fenólicos.....	28
3.4.2	Determinação de atividade antioxidante	30
3.5	Tratamento dos dados.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
4.1	Método de disco-difusão.....	33
4.1.1	Reativação das bactérias	33
4.1.2	Atividade antimicrobiana	35
4.2	Determinação de compostos fenólicos totais	41
4.3	Atividade Antioxidante	43
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

O *trub* quente é definido como um precipitado insolúvel que resulta da coagulação de proteínas e simples nitrogênios constituintes que interagem com os carboidratos e polifenóis (Barchet, 1993). É um resíduo obtido após a fervura e o processo de filtração do mosto, pouco aplicado ao processamento de novos alimentos (Saraiva *et al.*, 2018). Pode ser unido ao bagaço e ser utilizado como base para ração animal (Priest; Stewart, 2006). Sua composição apresenta cerca de 40% a 70% de proteínas, 7% a 32% de substâncias amargas, 20% a 30% de polifenóis e 5% de sais (Kühbeck *et al.*, 2006).

Trata-se de um resíduo com composição variada, pois depende de diversos fatores, entre eles: características da cevada, temperaturas de secagem do malte, intensidade da mosturação, tipo de cerveja produzida e tipo de processo empregado (Teles, 2007). Dessa forma, cada tipo de processo resulta num resíduo único, o que pode dificultar sua aplicação.

A não remoção do *trub* quente da cerveja pode impedir a fermentação, devido ao envolvimento das paredes celulares da levedura utilizada nessa etapa, prejudicando o transporte de substâncias e podendo levar à retenção da espuma, baixa estabilidade e forte amargor no paladar (Barchet, 1993). Por conta disso, a sua remoção é essencial para o resultado final da cerveja.

Há ainda, a diferenciação entre o *trub* quente e o *trub* frio. O *trub* quente é aquele que aparece durante a fervura e possui mais proteínas. Já o *trub* frio, é aquele formado durante o resfriamento do mosto, consistindo em complexos de taninos e proteínas (Barchet, 1993).

Como as leveduras são microrganismos afetados pela presença do *trub* quente, é possível que ele tenha um grande potencial antimicrobiano. Encontrar uma nova aplicação para esse resíduo tão pouco utilizado poderia agregar valor a ele, além de promover processos mais sustentáveis, diminuindo a quantidade de resíduos que são descartados.

1.1 Justificativa

A indústria cervejeira produz grandes quantidades de resíduos com alta carga orgânica. No estudo conduzido por Teles; Roveroto e Barana (2023), foi constatado que para produzir 1 L de cerveja do tipo *American Pale Ale* (APA) são empregados aproximadamente 4,3 L de água, sendo que, 70% da água consumida se torna efluente, possuindo valores de Demanda Química de Oxigênio acima de 4000 mg L⁻¹ e de Nitrogênio Total entre 25 e 80 mg L⁻¹.

Esse tipo de resíduo requer tratamento prévio ao seu descarte, o que pode gerar altos custos operacionais (Thirugnanasambandham; Sivakumar, 2015). Grandes cervejarias costumam ter recursos para tratamento biológico de seus efluentes, contudo, o problema maior se concentra nas microcervejarias, que não contam com Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) em sua estrutura, por falta de espaço e meios para tal (Teles; Roveroto; Barana, 2023).

Quando permitido, esses resíduos são descartados na rede coletora de esgoto, o que pode gerar uma sobrecarga no sistema, dado o crescimento observado nesse empreendimento nos últimos anos, que chegou até 36,4% (Teles; Roveroto; Barana, 2023).

Dentre os resíduos do processo, o *trub* quente é um dos principais, embora o bagaço do malte corresponda a 85% dos resíduos totais, estima-se que sejam gerados entre 0,2 e 0,4 kg de *trub* para cada hectolitro de cerveja produzida (Mathias; Mello; Sérvulo, 2014b). As formas mais utilizadas de reaproveitamento para o *trub* quente estão ligadas à sua utilização como base para ração animal, sendo que, o resíduo é pouco aplicado ao processamento de novos alimentos e processos industriais (Priest; Stewart, 2006; Saraiva *et al.*, 2018).

Dessa forma, investigar o potencial antibacteriano do *trub* quente pode contribuir para a redução do descarte desse resíduo, possibilitando sua aplicação em novos produtos e processos. Exemplo disso é o uso indiscriminado de antibióticos, nesse contexto, a busca por compostos naturais com potencial antimicrobiano tem se tornado uma alternativa promissora para o combate aos microrganismos (Kauffmann; Castro, 2023).

1.2 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antibacteriana do *trub* quente frente às bactérias e verificar se as propriedades presentes nesse resíduo são provenientes do lúpulo empregado no processo.

1.2.1 Objetivos Específicos

- Testar a atividade antibacteriana do *trub* quente frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Bacillus cereus*;
- Produzir e concentrar um extrato a partir do lúpulo utilizado na fabricação da cerveja que originou o *trub* quente e comparar a sua atividade antibacteriana com a do resíduo;
- Determinar o teor de compostos fenólicos no *trub* quente e no extrato de lúpulo;
- Avaliar a atividade antioxidante do *trub* quente e do extrato de lúpulo;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 História da Cerveja

A cerveja foi descoberta acidentalmente há aproximadamente 10.000 A.C. na Suméria, quando um tipo selvagem de cevada coletado e armazenado em jarros acabou sendo encharcado pela chuva e fermentando em contato com levedura selvagem (Sewell, 2014).

O processo de fabricação de cerveja está altamente associado à transição entre o fim da vida nômade e o início da sedentarização dos povos (Oliveira, 2021). Isso ocorreu devido ao desenvolvimento da agricultura, motivada pela domesticação da cevada selvagem.

Uma das principais motivações para a popularização da cerveja foi, além da sensação prazerosa que o consumo dessa bebida trazia, o fato de que indivíduos que consumiam a cerveja eram melhor nutridos do que aqueles que consumiam apenas os cereais em forma de mingau, sendo considerada mais nutritiva do que praticamente qualquer alimento da dieta desses povos, com a exceção de proteína animal (Katz; Voigt, 1986). Além disso, os cereais eram de fácil colheita, transporte e armazenamento (Katz; Voigt, 1986).

Mais tarde, ocorreu o domínio do povo sumério pelos Babilônios e anos depois, pelos Assírios, que continuaram difundindo a tradição da cerveja (Muxel, 2018). Essa cultura se espalhou desde a região da Mesopotâmia até o Egito, tornando a cerveja a bebida básica do local, sendo consumida por todas as classes, desde o Faraó até os camponeses (Muxel, 2018).

O comércio entre os egípcios e os gregos possibilitou a chegada da bebida até a península europeia e, a partir da relação dos gregos com o Império Romano, a cerveja foi mais fortemente disseminada pela Europa (Muxel, 2018).

Atualmente, a bebida é conhecida em todo o mundo e possui variações em sua composição e forma de fabricação. Cada povo que teve contato com a cultura da cerveja, desenvolveu seu próprio modo de produzi-la, o que contribuiu para a formação das chamadas escolas cervejeiras. Existem quatro escolas principais: Escola Germânica, Britânica, Americana e Belga.

A Escola Germânica é a mais tradicional das quatro, fato que pode ser observado através da Lei da Pureza da Cerveja, que: "exige que apenas cevada (malte de cevada), lúpulo e água sejam usados para a produção de cerveja; a levedura, como quarta matéria-prima, só foi mencionada pela primeira vez em 1551 (Esslinger; Narziss, 2003)."É caracterizada principalmente pelos estilos *Pilsen*, *Weiss* e *Hells* (Ferreira, 2023).

A Escola Britânica está altamente ligada à cultura das tavernas em mais recentemente, às *Public Houses (PUBs)* (Rotolo, 2023). É caracterizada por cervejas de alta fermentação, as Ales, utilização de maltes torrados e lúpulos ingleses. Também se destacam as cervejas do tipo *Indian Pale Ale (IPA)*, que contém uma alta quantidade de lúpulo. Historicamente, o surgimento da IPA está ligado à ocupação inglesa na Índia, pois os britânicos que lá viviam, não conseguiam obter cervejas de qualidade devido à dificuldade na conservação da bebida durante a viagem marítima, que durava pelo menos seis meses (Encyclopaedia Britannica, 2026).

Assim se iniciou a busca por maneiras de conservar a cerveja, incluindo seu transporte antes da etapa de fermentação, ou até mesmo a produção de variantes mais concentradas, sem sucesso. Até que na década de 1780, o principal fornecedor da *Porter*, cerveja escura e suave, decidiu enviar um tipo diferente de bebida envelhecida produzida com lúpulo recém colhida, chamada de *barleywine* ou "cerveja de outubro", a primeira IPA. Era considerada forte, clara e refrescante, agradável para o clima da Índia (Encyclopaedia Britannica, 2026).

O diferencial da IPA é o contato do lúpulo por um tempo mais longo com a bebida, atuando como um conservante, o que promove a sua maior durabilidade (Encyclopaedia Britannica, 2026).

O surgimento da Escola Belga está ligada às influências trazidas pelo Império Romano e aos povos do Norte da Europa. Tem grande relação com a cultura dos mosteiros. É caracterizada por cervejas de alta fermentação (*ale*), utilização de barris de madeira para o envelhecimento das bebidas, baixa presença de lúpulo e a utilização de adjuntos e especiarias, fator que faz com que esse tipo de cerveja se distancie da chamada Lei da Pureza germânica (Rotolo, 2023). Entre as cervejas belgas, destacam-se a *Witbier*, a *Saison* e a *Trappista* (Ferreira, 2023).

A Escola Americana remonta à imigração dos holandeses, irlandeses e ingleses a partir do século XVII, dividindo-se entre antes e depois da Lei Seca que durou entre os anos de 1920 e 1933, proibindo o consumo de qualquer tipo de bebida alcoólica. O estilo é ligado à cultura do *homebrew*, cervejeiro caseiro e às práticas de inovação. É marcada pela presença de cervejas de alta fermentação, vasta utilização de variedades de lúpulos americanos e inovação de processos (Rotolo, 2023).

Em 1910, os Estados Unidos eram considerados os maiores produtores de cerveja do mundo. Porém, em 1920, com a aplicação da Lei Seca, as companhias de bebidas passaram a focar na fabricação dos refrigerantes, o que gerou impactos no paladar da população, que se adaptou ao sabor mais adocicado dos refrigerantes e desenvolveu uma certa aversão ao amargor das cervejas. Com isso, em 1933, ao fim da Lei Seca, surgiram as *American Lagers*, que se tornaram o estilo mais consumido do mundo (Palato, 2017).

As *American Lagers* são cervejas refrescantes de cor amarelo-claro, com espuma pouco persistente. Além destas, também se destacam na Escola Americana a cerveja *California Common* e as *American Pale Ales* (APAs) (Ferreira, 2023).

As APAs são cervejas de alta fermentação, inspiradas nas *Pales* europeias, porém com a utilização de lúpulos frutados cultivados na Costa Oeste dos Estados Unidos. O lúpulo *Cascade* se destaca dentro desse estilo, conferindo características florais, cítricas, pinho e entrecasca (Dredge, 2017).

Em comparação ao estilo *English Pale Ale*, este é considerado mais amargo e alcoólico, tem boa retenção de espuma e possui uma coloração que vai desde o amarelo-claro até o âmbar. Seu teor alcoólico vai de 4,5% até 6,2% por volume (Morado, 2009).

2.2 Etapas do processo cervejeiro

O processo cervejeiro consiste em uma sequência de operações químicas e bioquímicas onde são controladas a temperatura, o tempo, a pressão e o pH de maneira rigorosa (Morado, 2009). As principais matérias-primas utilizadas no processo são água, malte, lúpulo e levedura (Drebel-steffen; Schneider, 2025) sendo cada uma delas responsável por características específicas da bebida.

A produção de cerveja pode ser dividido em seis etapas, sendo elas: moagem, mosturação, filtração, fervura, fermentação e maturação (Bortoli *et al.*, 2013). A primeira etapa é a moagem do malte, cuja finalidade é romper os grãos para expor a endosperma, facilitando a ação enzimática (Oliveira, 2021).

Após a moagem, ocorre a mosturação, também conhecida como brassagem. Essa etapa consiste na mistura do malte moído com água aquecida em temperaturas controladas, permitindo a quebra de amidos complexos em açúcares simples (Felix, 2024). O objetivo da moagem é extrair e converter carboidratos, proteínas e outros componentes do malte em substâncias dissolúveis (Felix, 2024).

Concluída a mosturação, realiza-se a filtração do mosto, etapa destinada à separação da fração líquida do mosto do bagaço de malte (Morado, 2009). Durante esse processo, as cascas dos grãos formam um leito filtrante natural, permitindo a obtenção de um mosto mais límpido (Venturini Filho, 2010).

Na sequência, o mosto é submetido à fervura, etapa fundamental para a esterilização do meio e extração de componentes voláteis indesejáveis (Oliveira, 2021), é na fervura que o lúpulo é geralmente adicionado. Segundo Morado (2009), essa etapa contribui para a formação de compostos relacionados ao aroma e ao sabor da cerveja.

Após a fervura, o mosto passa por um processo de resfriamento até a temperatura desejada para a fermentação. A fermentação representa uma das etapas mais importantes de processo cervejeiro, sendo responsável pela conversão dos açúcares fermentescíveis em etanol e dióxido de carbono, além de produzir compostos secundários essenciais, como ésteres e álcoois superiores, que definem as características aromáticas da bebida (Dragone; Almeida e Silva, 2010).

Depois da fermentação principal, a cerveja é submetida a maturação, na qual ocorre a estabilização do produto e a redução de compostos indesejáveis, como o diacetil (Navarro *et al.*, 2023). Nessa fase o aspecto visual da cerveja é transformado através de reações físico-químicas (Morado, 2009).

Por fim, podem ser realizadas operações de clarificação, filtração, pasteurização e envasamento para garantir a padronização e conservação da cerveja (Briggs *et al.*, 2004).

2.3 Lúpulo

O lúpulo é uma das quatro principais matérias-primas da cerveja, junto com a água, o malte e a levedura, que foi incluída de forma posterior na Lei da Pureza da Cerveja (Esslinger; Narziss, 2003). Cada um desses ingredientes possui a sua função essencial dentro da receita, conferindo corpo, amargor, aroma e sabor à bebida.

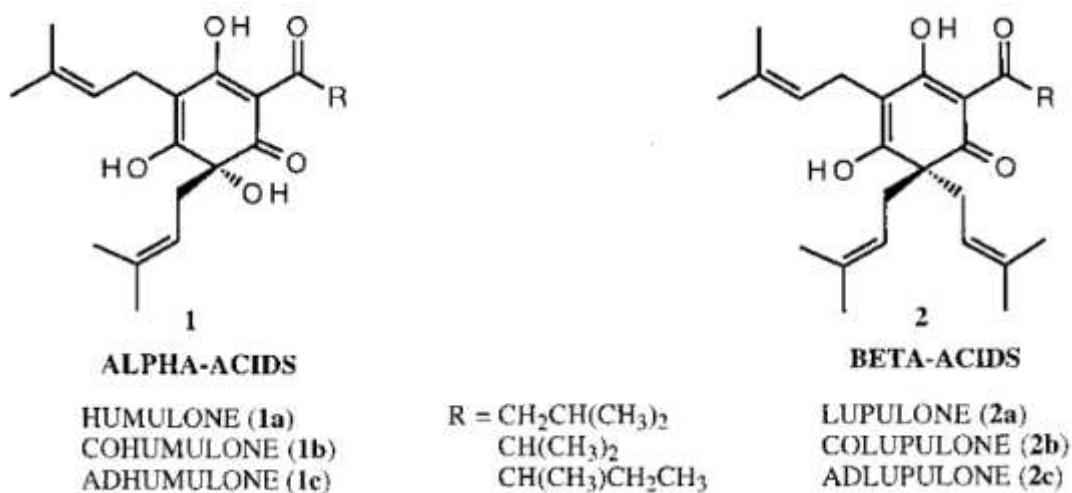
Do ponto de vista quantitativo, o lúpulo não representa uma porção considerável do mosto, mas possui grandes impactos qualitativos, pois esse componente forma complexos insolúveis com proteínas e polipeptídeos, contribuindo para a sua estabilidade coloidal, além de auxiliar na sua esterilização, influenciando na estabilização bacteriológica da cerveja (Keukeleire, 2000).

Além disso, os compostos voláteis, que compõem cerca de 0,5 a 3% do lúpulo e os compostos não voláteis presentes na fração polifenólica (3-6%) são conhecidos por enriquecer o sabor da cerveja. Porém, a sua composição é bastante complexa e seu estudo tem sido dificultado devido à variação das concentrações que são encontradas na bebida (Keukeleire, 2000).

Durante o processo de fervura, muitos desses compostos são volatilizados ou oxidados, de modo que, os constituintes do lúpulo que permanecem na cerveja finalizada diferem bastante das suas moléculas originais (Keukeleire, 2000).

É estimado que cerca de um terço dos polifenóis totais presentes na bebida sejam provenientes do lúpulo, sendo encontrados na forma de monômeros, dímeros e trímeros, mas principalmente como complexos associados a compostos nitrogenados. Além dos polifenóis, uma das classes mais importantes presentes nessa matéria-prima são os ácidos, que têm suas estruturas apresentadas na Figura 1. Dentre eles estão os do tipo alfa (1) e beta (2), também conhecidos como respectivamente humolonas e lupolonas (Keukeleire, 2000).

Figura 1 – Ácidos presentes no lúpulo



Fonte: Keukeleire (2000).

Os ácidos do lúpulo chegam a até 25% de seu peso seco e possuem considerável atividade bactericida, inibindo fortemente o crescimento de bactérias Gram-positivas, que ocorre devido à interferência do grupo prenil (3-metilbut-2-en-1-il) nas membranas plasmáticas das células. Essa característica auxilia no processo de esterilização do mosto (Keukeleire, 2000).

2.4 *Trub quente*

No trabalho de Prado (2021), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa, foi realizada uma pesquisa semelhante a partir do *trub* quente, porém com o intuito de verificar a possibilidade de utilizá-lo para a produção cosmética.

Como produtos antioxidantes são utilizados com frequência no setor de cosméticos e o *trub* apresenta alta carga proteica e antioxidante, este mostrou-se promissor. Foram realizados ensaios de compostos fenólicos e flavonoides em extração aquosa de *trub* quente coletado de uma cervejaria artesanal, que apresentaram resultados interessantes em relação a esses compostos e valores não ótimos de antioxidantes (Prado, 2021).

Apesar disso, valores não ideais encontrados não é um fator decisivo para descartar esse resíduo para produção cosmética, pois o *trub* possui variações de composição dependendo do tipo de cerveja e outros critérios baseados na literatura, como os altos teores de proteínas, polifenóis, carboidratos, minerais e ácidos graxos indicam que o resíduo tem potencial para utilização nesse ramo (Prado, 2021).

Na pesquisa de Costa *et al.* (2021), foram avaliadas a composição química e atividades antioxidante e antibacteriana do *trub* quente coletado de uma microcervejaria da cidade de Belo Horizonte, em Minas Gerais.

Os compostos flavonoides e fenólicos foram determinados por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC-DAD-MS/MS) e a atividade antioxidante foi avaliada por meio de ensaios utilizando ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) e 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). A atividade antibacteriana foi avaliada por meio de difusão em ágar e métodos de microdiluição (Costa *et al.*, 2021).

Os resultados sugerem que os compostos presentes no *trub* quente apresentam atividade tanto antimicrobiana quanto antioxidante. A atividade antibacteriana é observada em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e também nas leveduras. A fração de hexano presente no *trub* possui a concentração inibitória mínima (CIM) contra bactérias Gram-positivas, o que indica seu potencial como um agente antimicrobiano natural. Além disso, os compostos flavonoides e fenólicos são conhecidos por romper membranas celulares bacterianas e interferir em processos bioquímicos essenciais (Costa *et al.*, 2021).

Os autores Mathias, Mello e Sérulo (2014a) produziram um estudo sobre a caracterização de três resíduos cervejeiros, sendo eles o *trub* quente, o bagaço de malte e a levedura residual cervejeira, em função de seus teores de umidade, cinzas, açúcares redutores, proteínas totais e solúveis.

Foi empregado o método direto em balança de infravermelho para determinar o teor de umidade, as cinzas foram determinadas por incineração a 550 °C e, para determinação das proteínas, foi utilizado o método de Kjeldahl. Os três resíduos avaliados apresentaram altos valores de umidade e significativa quantidade de proteínas, evidenciando a possibilidade de sua utilização para sua recuperação (Mathias; Mello; Sérvulo, 2014a).

Os trabalhos de Prado (2021) e Mathias, Mello e Sérvulo (2014a), mostram o potencial que o *trub* possui para diferentes empregabilidades, devido ao seu alto teor proteico, à presença de compostos fenólicos e antioxidantes.

2.5 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, podendo assumir formas simples ou poliméricas. Destacam-se os flavonoides, taninos, ácidos fenólicos e os tocoferóis como compostos de origem natural (Angelo; Jorge, 2007). As principais formas desses compostos encontradas em plantas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Classes de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C ₆
Ácidos hidroxibenzóicos	C ₆ -C ₁
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C ₆ -C ₂
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanoides	C ₆ -C ₃
Naftoquinonas	C ₆ -C ₄
Xantonas	C ₆ -C ₁ -C ₆
Estilbenos, antoquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoides, isoflavonoides	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignanas, neolignanas	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonoides	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n
Taninos condensados	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n

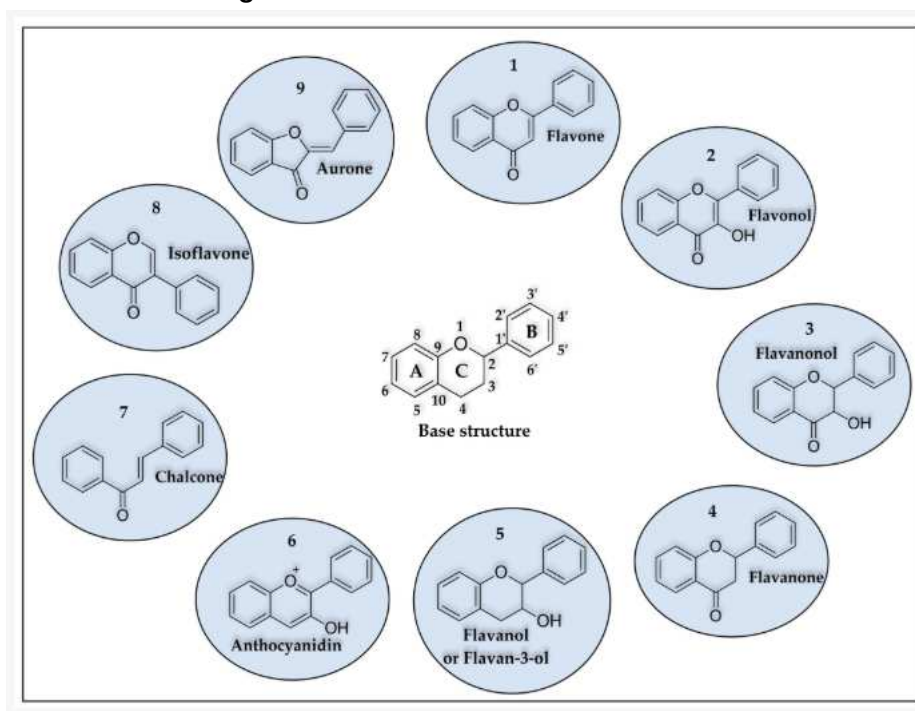
Fonte: Adaptado de Angelo e Jorge (2007).

São substâncias de origem natural produzidas pelo metabolismo secundário de plantas, fungos e bactérias, podendo também ser sintetizados quimicamente. São conhecidos por suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (Kauffmann; Castro, 2023).

A classe de compostos fenólicos que é apontada como a que possui o maior número de substâncias relatadas é a dos flavonoides (Kauffmann; Castro, 2023). De acordo com os resultados obtidos na pesquisa de Veiko *et al* (2023), as atividades antibacterianas dos flavonoides se devem à desordem na organização estrutural das membranas celulares bacterianas provocada por esses compostos, sendo este um modo direto de ação antibacteriana.

Na Figura 2 estão apresentadas as principais classes de flavonoides e suas estruturas.

Figura 2 – Flavonoides e suas estruturas



Fonte: Kauffmann e Castro (2023).

No trabalho de Prado (2021), foi avaliado o teor de flavonoides presentes em amostras de *trub* quente e obtido o total de 7,4 mg Equivalente de Quercetina (EQ) por litro, sendo a quercetina um tipo de flavonoide pertencente à subclasse flavonol (Alves *et al.*, 2011). Dessa forma, foi comprovada a presença desses compostos no *trub* quente, o que sugere o seu potencial antibacteriano.

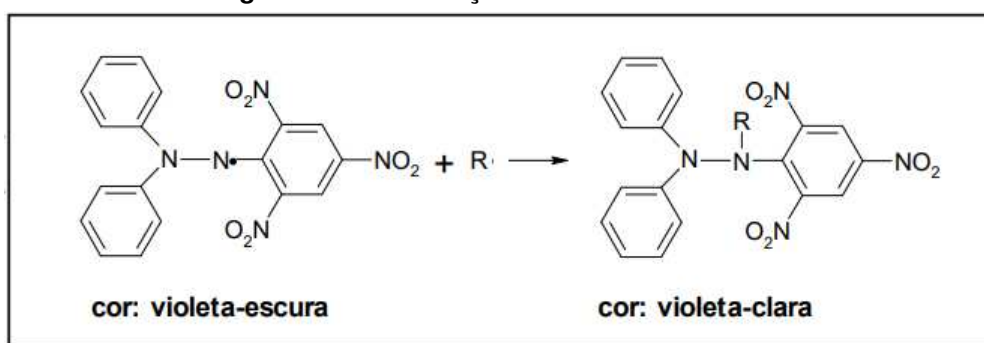
2.6 Antioxidantes

O estudo de compostos bioativos de origem vegetal tem intensificado a busca por moléculas com capacidade antioxidante. Esses compostos tem como característica a habilidade de atrasar, prevenir ou inibir os danos oxidativos induzidos por radicais livres e espécies reativas de oxigênios, mesmo se presentes em concentrações significativamente baixas se comparadas ao substrato oxidável (Ramalho; Jorge, 2006).

Para quantificar a capacidade antioxidante, diversos ensaios *in vitro* são amplamente empregados, dentre os quais se destaca o método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), originalmente descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e posteriormente adaptado por diferentes autores como Rufino *et al.* (2007) e Silveira *et al.* (2018).

Este ensaio fundamenta-se em uma reação de oxirredução na qual o DPPH, um radical livre estável de coloração violeta intensa em solução alcoólica, sofre redução ao receber um elétron ou átomo de hidrogênio proveniente do composto antioxidante testado, a estabilização do radical livre DPPH pode ser observada na Figura 3 . A redução pode ser observada visualmente pela mudança de coloração do meio reacional de violeta para amarelo, sendo a diminuição da absorbância monitorada por espectrofotometria. Trata-se de uma metodologia amplamente consolidada na literatura científica por apresentar baixo custo, simplicidade operacional e boa reprodutibilidade na triagem do potencial antioxidante de extratos e frações vegetais (Brand-williams; Cuvelier; Berset, 1995; Rufino *et al.*, 2007; Silveira *et al.*, 2018).

Figura 3 – Estabilização do radical livre DPPH



Fonte: Rufino *et al.* (2007).

2.7 Bactérias e seus tipos de parede celular

As bactérias são microrganismos procariontes unicelulares amplamente distribuídos no ambiente, desempenhando funções importantes em processos ecológicos, industriais e biotecnológicos. A estrutura bacteriana apresenta componentes fundamentais, como membrana plasmática, citoplasma, ribossomos e parede celular, sendo a parede celular uma das características mais importantes para a classificação bacteriana e para a resposta aos agentes microbianos (Tortora; Funke; Case, 2024).

A parede celular bacteriana é uma estrutura rígida localizada externamente à membrana plasmática, sendo responsável por conferir proteção mecânica, resistência osmótica e manutenção da forma celular. Sua composição é constituída essencialmente por peptidoglicano, um polímero formado por cadeias de carboidrato ligadas a aminoácidos. As diferenças estruturais nessa macromolécula permitem a divisão das bactérias em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. A sua classificação é obtida através da técnica de coloração de Gram e essa distinção estrutural influencia na permeabilidade celular e na suscetibilidade bacteriana aos agentes antimicrobianos (Tortora; Funke; Case, 2024).

As bactérias Gram-positivas apresentam uma parede celular espessa, composta por várias camadas de peptidoglicano, além de ácidos teicoicos e lipoteicoicos (Tortora; Funke; Case, 2024). Essa estrutura proporciona maior rigidez à célula e favorece a retenção do complexo cristal violeta-iodo durante a coloração de Gram, resultando na coloração roxa. Espécies como *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* pertencem a esse grupo e são muito utilizadas para ensaios microbiológicos que buscam avaliar a atividade microbiana de extratos vegetais e compostos bioativos. Corroborando essa aplicação, Ribeiro e colaboradores (2020) observaram a inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas por extratos foliares de *Piper peltatum* e *Piper marginatum*, demonstrando a sensibilidade dessas células a metabólitos secundários naturais.

Por outro lado, as bactérias Gram-negativas possuem uma parede celular mais complexa e menos espessa, sendo formada por uma fina camada de peptidoglicano localizada no espaço periplasmático, entre a membrana citoplasmática e uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos (Tortora; Funke; Case, 2024). Essa membrana adicional atua como uma barreira seletiva contra substâncias tóxicas, dificultando a ação de diversos agentes antimicrobianos. Espécies como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Klebsiella* spp. são exemplos de patógenos constantemente associados a infecções alimentares e surtos hospitalares. Estudos realizados por Chand (2013) e Shan *et al.* (2007) demonstraram que compostos naturais presentes no alho, gengibre e outras especiarias possuem atividade antimicrobiana contra esses microrganismos, embora a resistência estrutural das Gram-negativas seja geralmente superior à observada nas Gram-positivas.

A composição da parede celular bacteriana também influencia a interação com compostos bioativos de origem vegetal e resíduos agroindustriais. Compostos fenólicos, flavonoides e metabólitos secundários podem causar danos à membrana celular, alteração de permeabilidade e inibição de processos metabólicos essenciais (Tortora; Funke; Case, 2024). Nesse contexto, Veiko *et al.* (2023) destacam que flavonoides como quercetina, catequina e naringenina apresentam capacidade de modificar membranas bacterianas e reduzir a atividade hemolítica induzida por *Staphylococcus aureus*. De forma semelhante, Ferreira (2017) relata que resíduos cervejeiros possuem compostos bioativos com potencial antioxidante e antimicrobiano, reforçando a possibilidade de aproveitamento sustentável desses subprodutos industriais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O *trub* quente utilizado foi coletado durante um minicurso de produção de cerveja da Semana Acadêmica de Engenharia Química, ministrado pelo coorientador desse trabalho, Luciano Moro Tozetto. A cerveja produzida é do tipo *Cascade Single Hop Ale* e foi fabricada conforme a receita do livro de Hughes (2014).

3.1 Produção da cerveja

Para a etapa de brassagem, foram empregados 12,3 litros de água, 4,7 quilogramas de Malte pale e 235 g de Malte Carapils. Essa etapa dura aproximadamente uma hora e é realizada na temperatura de 65 °C. Em seguida, na etapa de fervura, foram adicionados 27 litros de água e o lúpulo Cascade 6,6%. O tempo de duração dessa etapa é de aproximadamente 1 hora e 10 minutos (Hughes, 2014). O lúpulo é adicionado em poucas quantidades em diferentes estágios da fervura, conforme descrito na Tabela 2:

Tabela 2 – Adições de lúpulo durante o processo de fervura

Lúpulo	Quantidade adicionada (g)	IBU	Estágio da fervura
Cascade 6,6%	41	30	No início
Cascade 6,6%	20	7,2	Últimos 15 minutos de fervura
Cascade 6,6%	20	2,9	Últimos 5 minutos de fervura
Cascade 6,6%	63	–	Ao desligar

Fonte: Adaptado de Hughes (2014).

O lúpulo empregado foi da variedade Cascade (BarthHaas). Segundo o fabricante, apresenta teor de alfa-ácidos de 4,5–7,9%, beta-ácidos de 4,8–7,2% e óleos essenciais totais de até 1,4 mL a cada 100 gramas, compostos predominantemente por mirceno, humuleno, cariofileno e farneseno, além de menores concentrações de linalol, geraniol, cetonas, isobutiratos e tióis (BarthHaas, 2026).

Ao final da etapa de fervura, foi retirado o *trub* quente por meio de agitação constante no sentido anti-horário, de forma a favorecer a decantação. Antes da etapa de fermentação, o mosto deve ser resfriado à temperatura de 18 °C para a adição da levedura Wyeast 1056 American Ale, da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Por fim, a mistura passou pela fermentação a 12 °C durante seis semanas.

3.2 Produção do Extrato de Lúpulo

A partir do mesmo lúpulo utilizado na fabricação da cerveja, que se trata do lúpulo do tipo Cascade, foi produzido um extrato pelo método de hidrodestilação aquosa onde o material vegetal foi imerso em água destilada e aquecido até ebulição à aproximadamente 100 °C por 4 horas, seguido de condensação e separação do extrato, conforme metodologia adaptada de

Clevenger (1928) e Guenther (1948). O sistema de hidrodestilação foi montado conforme a Fotografia 1:

Fotografia 1 – Sistema de hidrodestilação



Fonte: Autoria própria (2025).

Em seguida, esse extrato foi concentrado durante 4 horas por evaporação rotativa em rotaevaporador, sob pressão reduzida, com aquecimento em banho termostatzado a 40°C e rotação constante de 80 rpm, seguido de condensação na temperatura de 3° C e coleta do solvente, de acordo com metodologia adaptada de Pavia *et al.* (2010) e Furniss *et al.* (1989), e empregado nos experimentos de disco-difusão para estabelecer uma comparação com o *trub* quente.

3.3 Testes antibacterianos

Para os testes de atividade antibacteriana, foram utilizados quatro tipos de bactérias fornecidas pela Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico (CMIB) da UTFPR Câmpus Ponta Grossa: *Escherichia coli* (CMRP3278) *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) *Salmonella* sp. (CMRP3215) e *Bacillus cereus* (CMRP3246) .

As bactérias foram reativadas em Ágar Triptona de Soja (TSA) e incubadas em estufa a 37°C durante 24 horas. Posteriormente, foram repicadas em seus respectivos meios seletivos e incubadas por mais 24 horas.

Os meios seletivos utilizados para cada bactéria estão apresentados no Quadro 1:

Quadro 1 – Bactérias e seus respectivos meios seletivos

Bactéria	Meio seletivo
<i>Escherichia coli</i> (CMRP3278)	Ágar MacConkey
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Ágar Baird-Parker (BP)
<i>Salmonella</i> sp. (CMRP3215)	Ágar MacConkey

Fonte: Autoria própria (2026).

Para *Bacillus cereus* (CMRP3246), o meio seletivo recomendado seria o Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP). Entretanto, devido à indisponibilidade desse meio em laboratório, a bactéria foi reativada em TSA e incubada em estufa a 37 °C por 24 horas.

Após o crescimento, as colônias foram suspensas em solução salina a 0,85% (m/v), de modo a obter a densidade celular equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland. A comparação entre o padrão e a suspensão produzida foi realizada de forma visual contra fundo branco com linhas pretas (Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2021).

A inoculação foi realizada em triplicata por meio de espalhamento com *swab* estéril em placas de TSA, seguida da aplicação de discos de papel filtro de 5 mm de diâmetro previamente embebidos nas substâncias teste, conforme o método de disco-difusão do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2021).

As substâncias testadas foram: *trub* quente, extrato de lúpulo concentrado e solução de cloranfenicol a 0,5% (m/v), para controle positivo. Essas substâncias foram previamente esterilizadas, o *trub* quente foi autoclavado na temperatura de 120 °C durante 20 minutos e o extrato de lúpulo foi filtrado com microfiltros estéreis de 0,22 μm , para evitar a degradação de compostos termossensíveis. A solução de cloranfenicol 0,5% também foi filtrada com microfiltros estéreis de 0,22 μm e armazenada em frasco autoclavado.

As placas foram incubadas a 37 °C durante 48 horas, até a leitura dos halos de inibição.

3.4 Análise de compostos fenólicos e antioxidantes

Utilizando o *trub* quente filtrado a vácuo e o extrato de lúpulo produzido, foram realizadas análises de compostos fenólicos e antioxidantes.

3.4.1 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos foi realizada através do método de Folin-Ciocalteu adaptado de Wolff, Silveira e Lazzarotto (2019). Foram preparadas três soluções: Carbonato de sódio a 10%, Folin-Ciocalteu diluído a 3% e uma solução estoque de ácido gálico a 200 mg L^{-1} .

Para a produção da curva de calibração, foram utilizadas diluições da solução estoque de ácido gálico preparadas em balões volumétricos de 10 mL, conforme apontado na Tabela 3.

Tabela 3 – Curva de calibração de ácido gálico

Ponto	Concentração (mg L ⁻¹)	Volume da solução de ácido gálico (mL)
1	5	0,25
2	10	0,50
3	20	1,00
4	30	1,50
5	40	2,00
6	80	4,00
7	100	5,00
8	120	6,00
9	140	7,00
10	160	8,00

Fonte: Autoria própria (2026).

Para cada uma das diluições, foram adicionados 2,75 mL da solução de Folin-Ciocalteu e 0,25 mL da solução padrão de ácido gálico. Em seguida, a mistura foi homogeneizada em vórtex e mantida em repouso durante cinco minutos. Após o tempo especificado, foram acrescentados 0,25 mL da solução de carbonato de sódio e a mistura foi armazenada no escuro durante uma hora até a leitura em espectrofotômetro a 765 nm.

Após a reação entre o ácido gálico, o carbonato de sódio e o reagente de Folin-Ciocalteu, foi observada a coloração azul, que se apresentou de forma mais intensa nas soluções com maior concentração de compostos fenólicos.

O experimento foi realizado em triplicata e como amostras, foram utilizados o *trub* quente filtrado a vácuo e o extrato de lúpulo. A filtração a vácuo foi realizada para retirar partículas grosseiras que poderiam prejudicar a leitura no espectrofotômetro.

Como branco, foi utilizada uma solução contendo o reagente Folin-Ciocalteu, ácido gálico e o solvente. Dessa forma, com a absorbância do branco foi possível ajustar as demais leituras. A Equação 1 descreve a correção realizada:

$$A_{\text{corrigida}} = A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}} \quad (1)$$

Sendo:

$A_{\text{corrigida}}$: Absorbância corrigida;

A_{amostra} : Absorbância da amostra;

A_{branco} : Absorbância do branco.

A partir da regressão linear obtida da curva de calibração de ácido gálico, foi possível isolar a variável x e obter a concentração total de fenólicos, conforme a Equação 2:

$$x = \frac{y - b}{a} \quad (2)$$

Em seguida, o valor de x foi multiplicado pelo fator de diluição (FD), conforme a Equação

3:

$$C_{\text{final}} = x \times FD \quad (3)$$

Dessa forma, foi possível obter o resultado em miligramas de Equivalentes de Ácido Gálico por litro (mg EAG L⁻¹).

3.4.2 Determinação de atividade antioxidante

A análise de determinação de atividade antioxidante foi realizada através do método de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), descrito por Rufino *et al.* (2007) e adaptado por Silveira *et al.* (2018).

Seguindo o padrão do trabalho de Silveira *et al.* (2018), foram pesados 60 mg de DPPH em um uma balança analítica e adicionados a um balão volumétrico devidamente ambientado com etanol. O volume foi completado para 250 mL, de modo a obter uma solução estoque de 240 mg/L. Em seguida, com o uso de uma pipeta volumétrica, foram adicionados 10 mL da solução estoque a um balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com etanol.

Como padrão, foi utilizada uma solução de Trolox na concentração de 2 mM (Silveira *et al.*, 2018). Para o preparo dessa solução, foram pesados em balança analítica 250 mg de Trolox e completado o volume para 500 mL.

Para o desenvolvimento da curva padrão de Trolox, foram utilizadas soluções de 50 μmol a 2000 μmol , conforme mostra a Tabela 4:

Tabela 4 – Preparo das soluções padrão de Trolox		
Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Trolox (mL)	Etanol (mL)
2000	10	0
1500	7,5	2,5
1000	5	5
500	2,5	7,5
200	1	9
100	0,5	9,5
50	0,25	9,75

Fonte: Adaptado de Silveira *et al.* (2018).

Para a realização da análise, foram adicionados 150 μL de cada concentração do padrão de Trolox apresentada na tabela acima a 5,85 mL de solução de DPPH em tubos de ensaio e as misturas foram agitadas em vórtex para a homogeneização adequada e mantidas ao abrigo da luz até a leitura em 516 nm no espectrofotômetro.

O tempo de repouso das misturas foi de 30 minutos (Schubert *et al.*, 2007). O experimento foi realizado em quadruplicata e o etanol foi utilizado como branco.

Como amostras, foram utilizados o *trub* quente filtrado e o extrato de lúpulo. Além de passar pelo processo de filtração a vácuo, foi necessário centrifugar o *trub* quente durante 3 minutos. Dessa forma, as proteínas foram decantadas e a leitura foi realizada no sobrenadante da amostra.

Fotografia 2 – Trub Quente Filtrado

Fonte: Autoria própria (2025).

O percentual de inibição de DPPH foi calculado conforme a equação a seguir (Rufino *et al.*, 2007):

$$\% \text{ Inibição} = \left(1 - \frac{A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle}}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Sendo:

A_{amostra} : absorvância da amostra

A_{controle} : absorvância do controle (DPPH).

3.5 Tratamento dos dados

Para a seleção dos dados experimentais obtidos em triplicata, foi aplicado o Teste Q de Dixon, utilizando nível de confiança de 95%. Para a aplicação do método, os dados foram organizados em ordem crescente e calculado o quociente de rejeição (Q), conforme a Equação 5:

$$Q = \frac{\text{gap}}{\text{faixa}} \quad (5)$$

O *gap* é dado pela subtração entre o possível *outlier* e o valor adjacente a ele e a *faixa* é a diferença existente entre o maior e o menor valor (Chemistry LibreTexts, 2024).

O resultado obtido foi comparado aos valores de Q para número de amostra (n) igual a 3 e nível de confiança de 95%, sendo rejeitado quando o Q calculado na Equação 5 ultrapassasse o Q tabelado. A Tabela 5 apresenta os valores utilizados.

Tabela 5 – Valores críticos do Teste Q de Dixon

<i>n</i>	0,10	0,05	0,04	0,02	0,01
3	0,941	0,970	0,976	0,988	0,994
4	0,765	0,829	0,846	0,889	0,926
5	0,642	0,710	0,729	0,780	0,821
6	0,560	0,625	0,644	0,698	0,740
7	0,507	0,568	0,586	0,637	0,680
8	0,468	0,526	0,543	0,590	0,634
9	0,437	0,493	0,510	0,555	0,598
10	0,412	0,466	0,483	0,527	0,568

Fonte: Adaptado de Chemistry LibreTexts (2024).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Método de disco-difusão

4.1.1 Reativação das bactérias

Após a reativação em meio seletivo apropriado para cada uma das bactérias, foram observadas as colônias formadas. A Fotografia 3 mostra o crescimento de *S. aureus* em meio BP.

Fotografia 3 – Crescimento de *S. aureus* em meio BP



Fonte: Autoria própria (2025).

O Ágar Baird-Parker (BP) é utilizado principalmente para o isolamento de *Staphylococcus aureus*. É composto por agentes seletivos, como telurito de potássio e cloreto de lítio, que dificultam o crescimento de outros microrganismos. Além disso, a presença da gema de ovo permite a observação de atividade enzimática, formando halos ao redor das colônias de *S. aureus* (LABORCLIN, 2024a).

De acordo com Microbiology Class (2022), o que indica o crescimento da bactéria *S. aureus* nesse meio seletivo é a presença de colônias cinza-escuras brilhantes, frequentemente convexas, o que se assemelha bastante ao padrão observado na Fotografia 3, confirmando a espécie do microrganismo analisado.

Na Fotografia 4 foi observado o crescimento de *Salmonella* sp. em meio MacConkey.

Fotografia 4 – Crescimento de *Salmonella* sp. em meio MacConkey



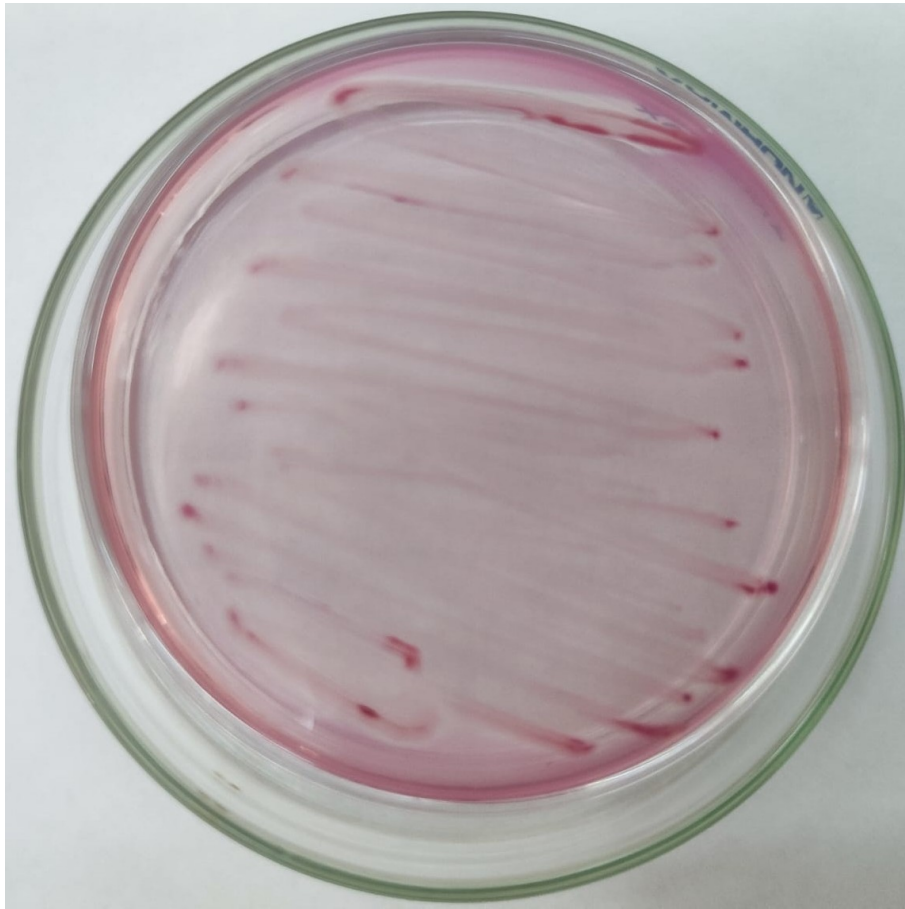
Fonte: Autoria própria (2025).

O Ágar MacConkey é um meio seletivo e diferencial destinado ao isolamento de bactérias Gam-negativas. Os sais biliares e o cristal violeta inibem bactérias Gram-positivas, enquanto a lactose e o indicador vermelho neutro permitem diferenciar bactérias fermentadoras de lactose, que produzem colônias rosadas, das não fermentadas, onde as colônias são incolores (LABORCLIN, 2024b).

No meio MacConkey, as colônias de *Salmonella* sp. se apresentam como incolores ou pálidas, devido à incapacidade de fermentar a lactose (Tankeshwar, 2013).

Na Fotografia 5 foi observado o crescimento de *E. coli* em meio MacConkey.

Fotografia 5 – Crescimento de *E. coli* em meio MacConkey



Fonte: Autoria própria (2026).

Em meio MacConkey, as colônias de *E. coli* apresentam uma coloração rosada devido à presença de intensa fermentação de lactose, conforme observado na Fotografia 5 (Macfaddin, 2000).

4.1.2 Atividade antimicrobiana

Após as 48 horas de incubação, as placas foram retiradas da estufa e colocadas contra fundo escuro, para facilitar a observação dos possíveis halos de inibição formados.

Fotografia 6 – Halos de inibição das amostras frente a *S. aureus*

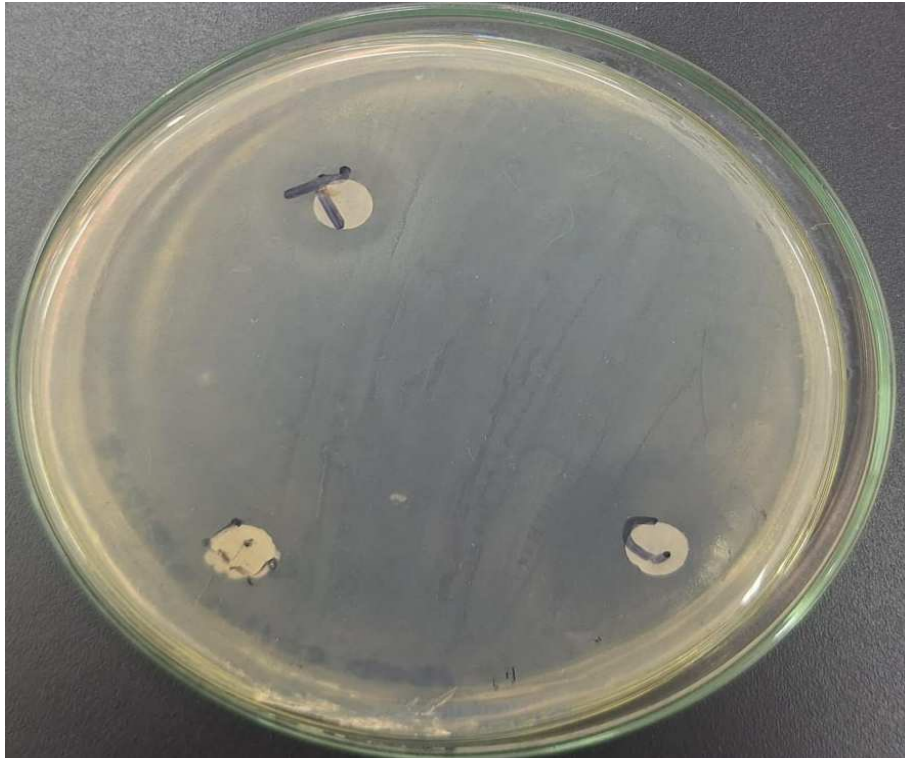


Fonte: Autoria própria (2026).

Cada disco de papel filtro continha sua identificação de acordo com a substância em que foi embebido, sendo "C" a solução de Cloranfenicol 0,5%, "T" o sobrenadante do *trub* quente e "E" o extrato de lúpulo concentrado. Foi observado que a solução controle de antibiótico formou o halo da forma esperada, validando o método utilizado.

O mesmo procedimento foi adotado para *Bacillus cereus*, conforme mostra a Fotografia 7.

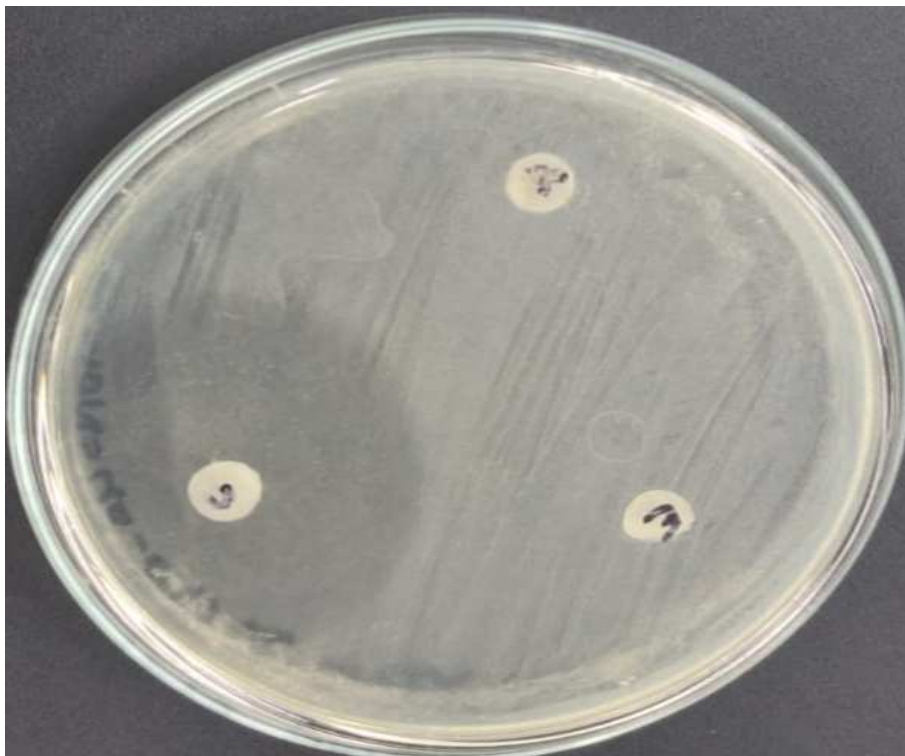
Fotografia 7 – Halos de inibição das amostras frente a *B. cereus*



Fonte: Autoria própria (2026).

Apenas os discos de controle e *trub* quente apresentaram a formação de halos de inibição bacteriana.

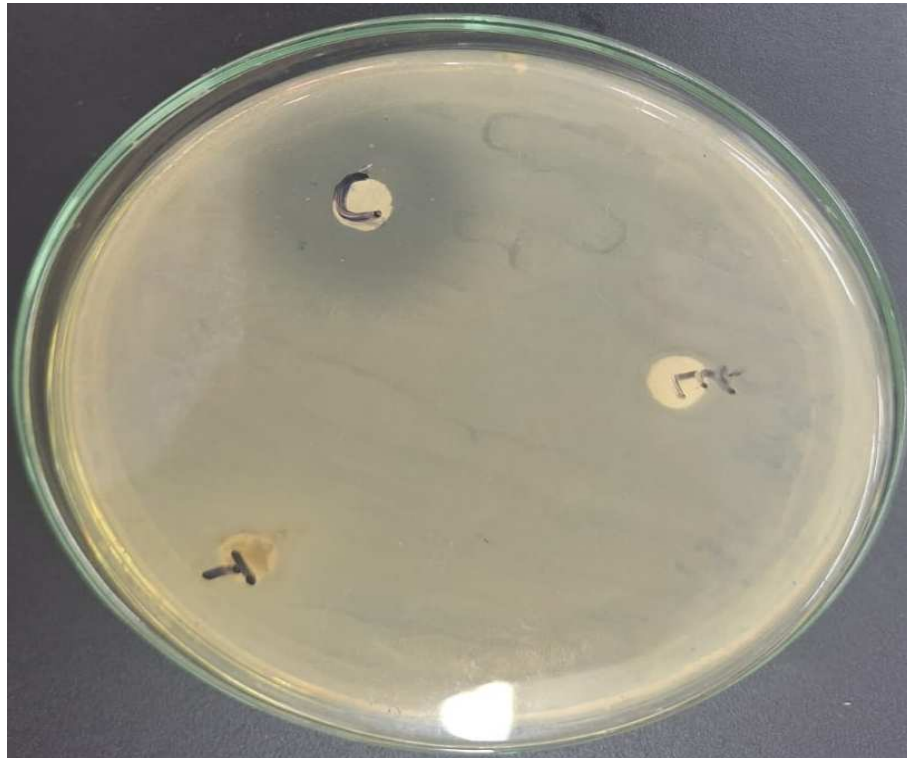
Fotografia 8 – Halos de inibição das amostras frente a *Salmonella* sp.



Fonte: Autoria própria (2026).

No caso das placas incubadas com a bactéria *Salmonella* sp., apenas o disco de controle formou halo de inibição bacteriana, mostrando que o método utilizado foi válido. Os discos contendo *trub* quente e extrato de lúpulo não foram capazes de inibir o crescimento do microrganismo.

Fotografia 9 – Halos de inibição das amostras frente a *E. coli*



Fonte: Autoria própria (2026).

Assim como observado nas placas incubadas com *Salmonella* sp., os experimentos com *E. coli* mostraram inibição bacteriana apenas no disco de controle positivo, validando o método utilizado.

A medição dos halos foi realizada a partir da borda dos discos de papel filtro até o diâmetro externo do halo formado, de forma a descontar o diâmetro do disco. Os resultados estão descritos na Tabela 6. DP indica o desvio padrão calculado.

Tabela 6 – Halos de inibição obtidos pelo método de disco-difusão.

Tratamento	Medição	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>B. cereus</i> (mm)	<i>Salmonella</i> sp. (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
Trub quente	Placa 1	7	5	0	0
	Placa 2	8	-	0	0
	Placa 3	6	7	-	0
	Média ± DP	7,00 ± 1,00	6,00 ± 1,41	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Extrato de lúpulo	Placa 1	0	0	0	0
	Placa 2	1	0	0	0
	Placa 3	1	0	-	0
	Média ± DP	0,67 ± 0,58	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Controle	Placa 1	10	7	14	8
	Placa 2	16,5	6	14,5	8
	Placa 3	11	7	-	10
	Média ± DP	12,50 ± 3,50	6,67 ± 0,58	14,25 ± 0,35	8,67 ± 1,15

Fonte: Autoria própria (2026).

De maneira geral, foi observado que o *trub* quente apresentou inibição frente a bactérias Gram-positivas, especialmente *S. aureus*, onde obteve a formação do maior halo médio (12,5 mm). O extrato de lúpulo apresentou atividade apenas contra *S. aureus*, obtendo resultados menos efetivos do que o *trub*.

Não foram encontrados dados na literatura sobre zonas de inibição especificamente para o *trub* quente, porém, os autores Ribeiro e colaboradores (2020) testaram a atividade de extratos de plantas das espécies *Piper peltatum* e *Piper marginatum* frente às bactérias *Klebsiella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*.

O extrato de *Piper marginatum* não apresentou atividade antibacteriana frente aos microrganismos testados, enquanto que, o extrato de *Piper peltatum* apresentou efeito inibitório somente contra *Bacillus subtilis* e *S. aureus*, ambas bactérias Gram-positivas. O autor aponta que as bactérias Gram-negativas são aquelas que apresentam uma membrana externa que as bactérias Gram-positivas não têm, sugerindo que a penetração do extrato em microrganismos do primeiro tipo é mais difícil de ocorrer, sendo esta a possível razão para que as amostras testadas não tenham inibido o seu crescimento.

A autora Ferreira (2017) obteve resultados parecidos em sua pesquisa, precisando empregar uma concentração maior de extratos de plantas medicinais contra bactérias Gram-negativas para obter o efeito bactericida.

Chand (2013) testou a atividade do extrato de *Zingiber officinale* (gengibre) frente às bactérias *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* utilizando o método de disco-difusão. O extrato de gengibre não apresentou inibição contra *Escherichia coli* e *Salmonella thyphi* para nenhuma das concentrações utilizadas, apresentando atividade bactericida somente contra *S. aureus* e *B. cereus*.

Shan *et al.* (2007) avaliou a atividade de 46 extratos de pimentas e plantas medicinais contra cinco tipos de bactérias presentes em alimentos (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella anatum*) através do método de difusão em poços de ágar. Além disso, os autores também analisaram a presença de compostos fenólicos nas amostras.

Muitos desses extratos continham altos níveis de compostos fenólicos e apresentaram atividade antibacteriana. De forma geral, foi observado que bactérias Gram-positivas são mais sensíveis aos extratos testados do que bactérias Gram-negativas, *S. aureus* foi a espécie mais sensível, enquanto que *E. coli* foi o microrganismo mais resistente aos testes, o que se assemelha aos resultados encontrados nos testes envolvendo o *trub* quente e o extrato de lúpulo.

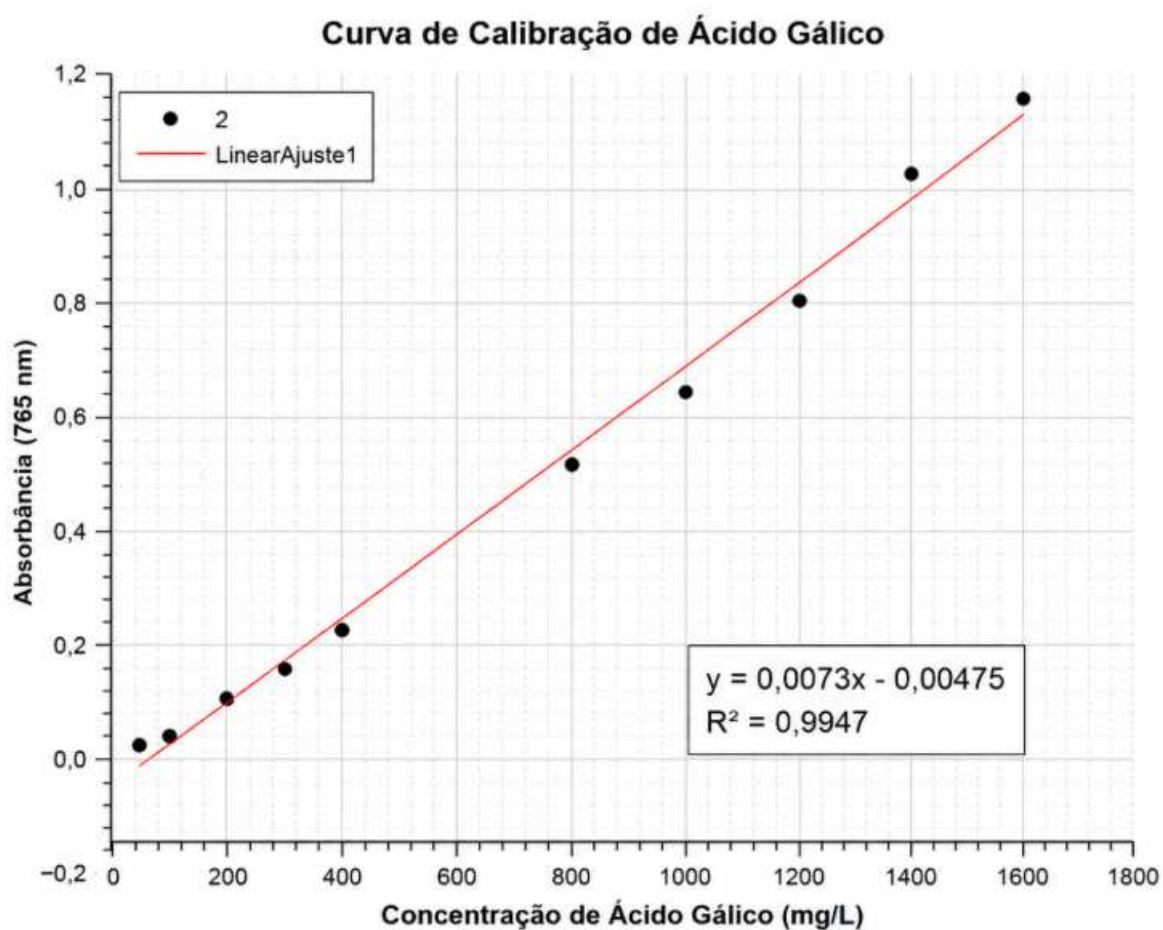
Também foi notada uma correlação entre a presença de compostos fenólicos dos extratos e a atividade bactericida, com R^2 entre 0,73 e 0,93, o que sugere que o potencial antibacteriano dos extratos está associado com os seus compostos fenólicos constituintes (Shan *et al.*, 2007).

Dessa forma, a análise de compostos fenólicos se mostra como uma importante ferramenta complementar para a avaliação de atividade antimicrobiana, visto que, esses compostos provocam a desordem na organização estrutural de membranas celulares bacterianas (Veiko *et al.*, 2023).

4.2 Determinação de compostos fenólicos totais

A partir das diluições da solução estoque de ácido gálico, foi produzida a curva de calibração no software QtiPlot, apresentada no Gráfico 1. Todos os valores obtidos foram ajustados a partir da absorbância do branco de 0,003.

Gráfico 1 – Curva de Calibração de Ácido gálico



Fonte: Autoria própria (2026).

Na Tabela 7 encontram-se os valores obtidos através da leitura das amostras em triplicata de *trub* e extrato de lúpulo:

Tabela 7 – Absorbâncias das amostras de *trub* e extrato de lúpulo

Trub	Absorbância	Lúpulo	Absorbância
T1	0,217	L1	0,055
T2	0,152	L2	0,059
T3	0,231	L3	0,055
Média ± DP	0,224 ± 0,010	Média ± DP	0,056 ± 0,002

Fonte: Autoria própria (2026).

Utilizando o Teste Q de Dixon com 95% de confiança para selecionar os dados, foi desconsiderada a leitura da amostra T2. O valor L2 também seria desconsiderado para esse nível de confiança, porém, a diferença observada foi considerada pequena e compatível com a variabilidade experimental do método de Folin-Ciocalteu.

Assim, aplicando-se as médias obtidas de 0,224 (amostras de *trub* quente) e 0,0563 (amostras de extrato de lúpulo) nas equações 2 e 3, com o uso da curva obtida no Gráfico 1, foram obtidos os resultados em mg EAG L^{-1} , apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Concentração de fenólicos totais para o *trub* e o extrato de lúpulo

Amostra	Absorbância média	Fenólicos totais
Trub quente	0,224	148,77 mg EAG L^{-1}
Lúpulo	0,0563	56,88 mg EAG L^{-1}

Fonte: Autoria própria (2026).

Os valores encontrados de compostos fenólicos totais foram bastante superiores aos resultados encontrados por Prado (2021), que obteve um total de 34,36 mg EAG L^{-1} para o *trub* quente. Possivelmente isso ocorreu devido à diferença entre os experimentos, pois a autora efetuou o teste para um extrato produzido a partir do *trub* quente, enquanto que, nesse experimento foi testado o sobrenadante puro apenas submetido à filtração a vácuo. Além disso, fatores como o processo, temperaturas utilizadas e o tipo de cerveja produzida podem influenciar em sua composição (Teles, 2007).

Houve diferenças entre o total de fenólicos encontrados para as amostras de extrato de lúpulo, o que mostra que, a quantidade desses compostos presentes no *trub* quente é influenciada por outros fatores além do lúpulo empregado. É possível que através de outros métodos de extração, os compostos fenólicos nele presentes sejam melhor preservados, visto que, o processo de hidrodestilação envolve aquecimento prolongado e pode favorecer a degradação ou a perda de propriedades bioativas, justificando a diferença entre os resultados obtidos.

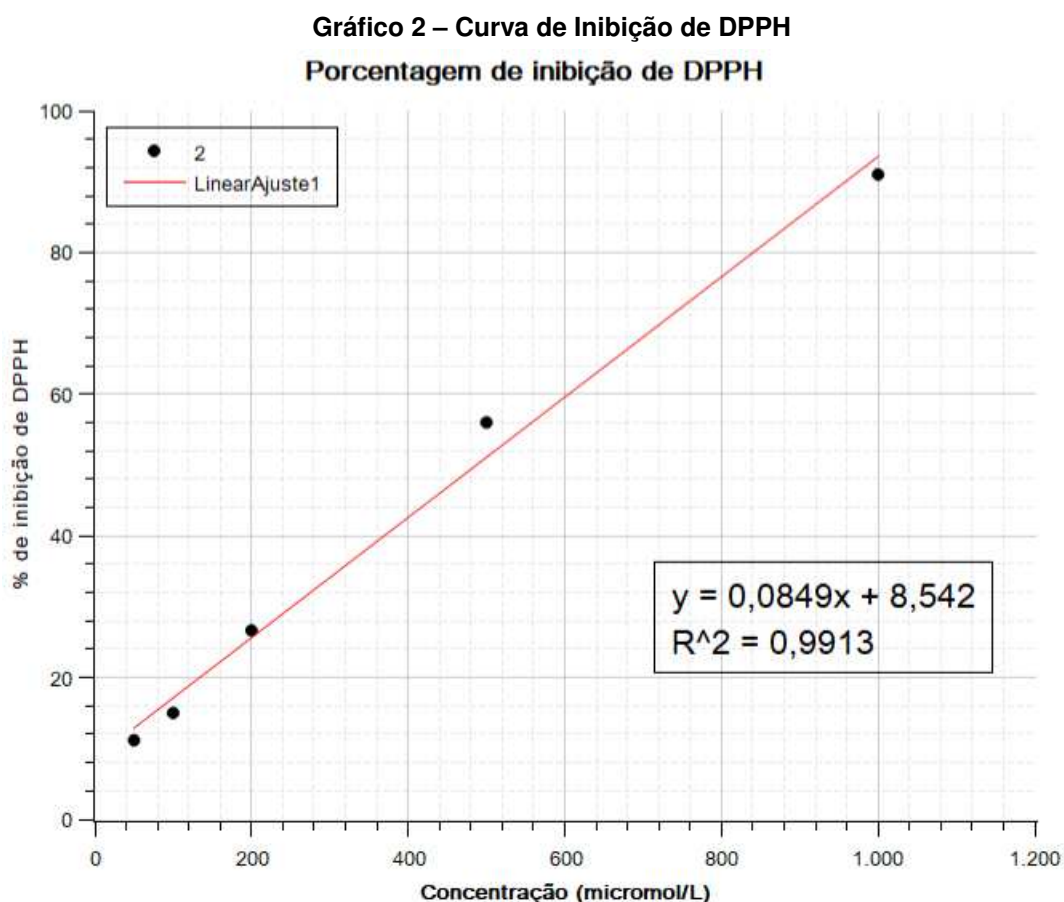
É importante ressaltar que o tempo empregado na obtenção do extrato de lúpulo foi bastante superior ao tempo de fervura do *trub* quente. Enquanto o *trub* quente foi obtido após 1 hora e 10 minutos de fervura, o extrato de lúpulo passou por um processo de hidrodestilação durante 4 horas a aproximadamente 100 °C, não sendo possível comparar diretamente os seus resultados.

Wu *et al.* (2020) testou a atividade antioxidante e anti-inflamatória de extratos de lúpulo obtidos por diferentes métodos de extração, incluindo extração aquosa e etanólica. Todos os extratos etanólicos mostraram presença mais elevada de polifenóis, flavonoides e ácidos amargos que os extratos aquosos. Dessa forma, ficou comprovado que o solvente empregado possui influência direta sobre a composição química e as propriedades biológicas do extrato obtido.

O teor de fenólicos encontrado para o *trub* quente foi superior ao encontrado no extrato de lúpulo concentrado, o que reforça a correlação entre a presença desses compostos e a atividade antibacteriana, uma vez que o *trub* quente também se mostrou mais efetivo contra as bactérias Gram-positivas avaliadas.

4.3 Atividade Antioxidante

A leitura da absorbância do controle de DPPH foi de 0,550. A partir desse valor e das leituras em 516 nm realizadas para as diluições de Trolox, foi calculado o percentual de inibição para cada uma das amostras com base na Equação 4 e gerada a curva no software QtiPlot, conforme o Gráfico 2.



Fonte: Autoria própria (2026).

Após a produção da curva, foram realizadas as leituras no espectrofotômetro das soluções contendo *trub* quente e extrato de lúpulo. Os resultados estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9 – Leitura das amostras de trub quente e extrato de lúpulo no ensaio de DPPH

Trub quente	Absorbância	Extrato de lúpulo	Absorbância
T1	0,102	L1	0,522
T2	0,074	L2	0,528
T3	0,071	L3	0,536
Média ± DP	0,0823 ± 0,0170	Média ± DP	0,5287 ± 0,0070

Fonte: Autoria própria (2026).

Os dados obtidos foram selecionados com o uso do Teste Q de Dixon, porém nenhum valor discrepante foi encontrado. Dessa forma, foi possível utilizar a média simples das três amostras de *trub* quente e do extrato de lúpulo para calcular suas respectivas inibições de DPPH.

Com base na Equação 4, foi calculada uma inibição de 85,03% para o *trub* quente. Aplicando esse valor de inibição no y da equação obtida no Gráfico 2, foi obtida uma atividade antioxidante de 900,92 $\mu\text{mol TE L}^{-1}$, indicando alto potencial antioxidante para essa amostra.

Para o extrato de lúpulo, o percentual de inibição calculado foi de 3,87%. Observou-se que esse resultado ficou abaixo do limite inferior da faixa linear da curva obtida no Gráfico 2, não sendo possível determinar de forma confiável sua atividade antioxidante em Equivalentes de Trolox (TE). No processo empregado na obtenção do extrato de lúpulo, o uso de outros tipos de solvente, como o etanol, poderiam promover uma maior preservação de seus compostos bioativos.

Wu *et al.* (2020) demonstraram que extratos de lúpulo com maior concentração de polifenóis apresentaram maior atividade antioxidante, evidenciando a correlação entre essas propriedades. Sendo assim, a possível degradação dos compostos fenólicos durante a hidrodestilação pode ter contribuído para uma redução da atividade antioxidante do extrato final, justificando os resultados obtidos nos experimentos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos experimentos realizados, observou-se que o *trub* quente coletado da cerveja do tipo *Cascade Single Hop Ale* produzida na UTFPR apresentou atividade antibacteriana frente às bactérias Gram-positivas testadas, sendo elas *S. aureus* e *Bacillus cereus*. Esse resultado é compatível com os de outros estudos descritos na literatura e possivelmente se deve ao fato de que bactérias desse tipo são mais suscetíveis a substâncias que contêm compostos fenólicos. A parede celular das bactérias Gram-negativas, por outro lado, possui uma camada extra, o que aumenta a sua resistência contra agentes antibacterianos.

O extrato de lúpulo concentrado apresentou baixa atividade antibacteriana, apesar das informações relatadas na literatura sobre as suas propriedades frente a esses microrganismos. Esse resultado pode ser decorrente do processo de hidrodestilação empregado na produção do extrato, que foi realizado em altas temperaturas por tempo prolongado, podendo ter causado a degradação de seus compostos bioativos. Uma possível alternativa para estudos futuros pode ser a utilização de outro solvente para a extração, como por exemplo o etanol.

Tanto o *trub* quente, como o extrato de lúpulo manifestaram a presença de compostos fenólicos, porém, o resíduo cervejeiro mostrou uma quantidade maior do que o extrato. Não foi possível estabelecer uma comparação direta entre o *trub* quente e o extrato de lúpulo, devido à diferença no tempo empregado nas etapas de obtenção de ambos. É possível que outros métodos de extração sejam mais eficientes na preservação dessas substâncias.

Quanto ao potencial de inibição do DPPH, apenas o *trub* quente demonstrou atividade antioxidante considerável. Não foi possível calcular a atividade antioxidante do extrato do lúpulo em TE, pois o percentual obtido ficou abaixo do limite inferior da faixa linear da curva. Propriedades antioxidantes e compostos fenólicos possuem relação entre si, sendo que, produtos ricos em compostos fenólicos costumam apresentar maior atividade antioxidante, o que explica os resultados obtidos para o *trub* quente. A baixa atividade observada no extrato de lúpulo pode ser decorrente da degradação de seus compostos fenólicos durante a hidrodestilação.

De forma geral, a pesquisa mostrou que compostos fenólicos possuem grande influência na atividade antibacteriana de extratos e outros tipos de substâncias. Além disso, os resultados obtidos evidenciam a importância da escolha do método de extração, da temperatura adequada, do tempo empregado e da granulometria do reagente utilizado, para que o produto final possa ter o máximo de propriedades preservadas. Os resultados dos testes realizados mostram a aplicabilidade do *trub* quente no combate a bactérias Gram-positivas e a forte presença de compostos fenólicos e antioxidantes, o que pode reduzir seu descarte, com a sua reinserção em processos industriais. Porém, são necessários estudos futuros para definir métodos para a sua melhor extração, conservação e aproveitamento.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M. P. *et al.* Aspectos gerais e abordagem terapêutica da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 14, n. 2, set. 2011. Disponível em: <https://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/3422>.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo: v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32841>. Acesso em: 10 maio 2026.
- BARCHET, R. Hot trub: Formation and removal. **Brewing Techniques**, v. 1, n. 4, 1993.
- BarthHaas. **Cascade**, . 2026. Disponível em: <https://www.barthhaasx.com/hops-and-products/hops/cascade>.
- BORTOLI, D. A. da S. *et al.* Leveduras e produção de cervejas – revisão. **Bioenergia em Revista: Diálogos**, v. 3, n. 1, p. 45–58, jan./jun. 2013. Disponível em: <http://fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/77>. Acesso em: 25 maio 2026.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. **Método de disco-difusão para teste de sensibilidade aos antimicrobianos**. Brasil: BrCAST, 2021. Disponível em: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2021/05/Metodo-de-disco-difusao-BrCAST.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2026.
- BRIGGS, D. E. *et al.* **Brewing: Science and Practice**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2004. ISBN 9781855734906.
- CHAND, B. Antibacterial effect of garlic (*allium sativum*) and ginger (*zingiber officinale*) against staphylococcus aureus, salmonella typhi, escherichia coli and bacillus cereus. **Journal of microbiology, biotechnology and food sciences**, v. 2, n. 4, p. 2481–2491, Feb. 2013. Disponível em: <https://office2.jmbfs.org/index.php/JMBFS/article/view/7505>.
- Chemistry LibreTexts. **Critical Values for Dixon's Q-Test**, . 2024. Disponível em: https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_%28LibreTexts%29/35%3A_Appendicies/35.05%3A_Critical_Values_for_Dixon%27s_Q-Test. Acesso em: 18 maio. 2026.
- CLEVENGER, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v. 17, n. 4, p. 345–349, 1928.
- COSTA, F. S. F. *et al.* Reuse of hot trub as an active ingredient with antioxidant and antimicrobial potential. **Waste and Biomass Valorization**, Springer v. 12, n. 4, p. 2037–2047, 2021.
- CURIE, M. **Pierre Curie**. New York: Macmillan, 1923.
- DRAGONE, G.; Almeida e Silva, J. B. Tecnologia de fabricação da cerveja. *In*: Venturini Filho, W. G. (Ed.). **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher 2010. 1 p. 11–46.
- DREBEL-STEFFEN, L.; SCHNEIDER, T. Etapas de fabricação e microrganismos contaminantes encontrados no processo de fabricação da cerveja. **Revista de Ciências da Saúde - REVIVA**,

Chapecó, v. 4, n. 2,, 2025. Disponível em: <https://revistas.uceff.edu.br/reviva/article/view/885>. Acesso em: 25 maio 2026.

DREDGE, M. **Cervejas artesanais**: Uma volta ao mundo em mais de 350 rótulos. São Paulo:: Publifolha, 2017.

Encyclopaedia Britannica. **India Pale Ale**, . 2026. Disponível em: <https://www.britannica.com/topic/India-pale-ale>. Acesso em: 10 maio 2026.

ESSLINGER, H. M.; NARZISS, L. Beer. *In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim:: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 2003.

FELIX, L. R. **Processos pré fermentativos na produção de cerveja**: Trabalho de conclusão de curso (graduação). Araraquara, SP: FCFAR/UNESP, 2024. Potenciais fatores que modulam essas etapas e a relação com as características sensoriais e funcionais. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/be422320-e71a-40c7-8377-8a9bb5d91def/content>. Acesso em: 25 maio 2026.

FERREIRA, C. G. S. **A indústria cervejeira e sua relevância no mercado brasileiro**: Trabalho acadêmico. Lavras, MG: UFLA, 2023. Acesso em: 10 maio 2026.

FERREIRA, M. J. G. **Aplicação de resíduos cervejeiros como fonte de compostos bioativos**. 2017. Dissertação (Dissertação (Mestrado)) — Universidade Federal do Ceará Fortaleza, CE: 2017. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/36890/3/2017_dis_mjgferreira.pdf. Acesso em: 10 maio 2026.

FURNISS, B. S. *et al.* **Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry**. 5. ed. London: Longman, 1989.

GUENTHER, E. **The Essential Oils**. New York: D. Van Nostrand Company, 1948.

HUGHES, G. **Cerveja feita em casa**. São Paulo:: Publifolha, 2014.

KATZ, S. H.; VOIGT, M. M. Bread and beer: The early use of cereals in the human diet. **Expedition**, University of Pennsylvania Museum Philadelphia: v. 28, n. 2, p. 23–34, 1986.

KAUFFMANN, A. C.; CASTRO, V. S. Phenolic compounds in bacterial inactivation: A perspective from brazil. **Antibiotics**, v. 12, n. 4,, 2023. ISSN 2079-6382. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/4/645>.

KEUKELEIRE, D. D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 108–112, 2000.

KÜHBECK, F. *et al.* Influence of lauter turbidity and hot trub on wort composition, fermentation, and beer quality. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 64, n. 1, p. 16–28, 2006.

LABORCLIN . **Baird Parker Ágar: instrução de uso / bula técnica**. Pinhais, PR: , 2024. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2024/09/172075.pdf>. Acesso em: 26 maio 2026.

LABORCLIN . **Ágar MacConkey: instrução de uso / bula técnica**. Pinhais, PR: , 2024. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2024/02/172040.pdf>. Acesso em: 26 maio 2026.

MACFADDIN, J. F. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

MATHIAS, T. R. d. S.; MELLO, P. P. M. d.; SÉRVULO, E. F. C. Caracterização de resíduos cervejeiros. *In*: ANAIS DO XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. 2014, São Paulo:.. **Anais [...]** São Paulo:: Blucher, 2014. p. 3805–3812.

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

Microbiology Class. **Baird-Parker Agar**, . 2022. Disponível em: <https://microbiologyclass.net/baird-parker-agar/>. Acesso em: 21 maio. 2026.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**. São Paulo:: Larousse do Brasil, 2009.

MUXEL, A. A. **Uma Breve História sobre a Cerveja**: Das origens às primeiras regulamentações. Blumenau, SC: UFSC, 2018. Disponível em: <https://amuxel.paginas.ufsc.br/files/2018/08/Breve-Hist%C3%B3ria.pdf>. Acesso em: 10 maio 2026.

NAVARRO, L. *et al.* Processo de fabricação de cerveja artesanal. *In*: INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE. ANAIS DA FEIRA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA, ARTE E CULTURA (FECITAC). 2023. **Anais [...]**, 2023. Disponível em: <https://publicacoes.ifc.edu.br/index.php/fecitac/article/view/4327/3561>. Acesso em: 25 maio 2026.

OLIVEIRA, M. G. d. **Composição isotópica das cervejas comercializadas no Brasil**: Trabalho de conclusão de curso (graduação). Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 2021. Disponível em: <https://bdta.abcd.usp.br/directbitstream/6aa5682d-d178-4c1d-aa17-efc164e62a84/TCCMarinaGuimaraesdeOliveira.pdf>. Acesso em: 10 maio 2026.

Palato. **O papel dos EUA na história das cervejas**: A influência estadunidense na evolução dos estilos cervejeiros, . 2017. Disponível em: <https://www.palato.com.br/post/2017/11/08/o-papel-dos-eua-na-hist-c3-b3ria-das-cervejas>. Acesso em: 10 maio 2026.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PRADO, M. B. d. **Avaliação do trub quente como potencial ingrediente para a produção de cosméticos**: Trabalho de conclusão de curso. Ponta Grossa, PR: UTFPR, 2021. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/28057>. Acesso em: 10 maio 2026.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2. ed. Florida:: CRC Press and Taylor & Francis Group, 2006. 829 p.

RAMALHO, M. P.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

RIBEIRO, B. I. O.; COLABORADORES. Antimicrobial activity of extracts of piper peltatum and piper marginatum on klebsiella spp., staphylococcus aureus, salmonella spp., escherichia coli and bacillus subtilis. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, ,,, 2020.

ROTOLO, T. Notas sobre cultura e cerveja. **Mangút: Conexões Gastronômicas**, Brasília, DF:,,, 2023. Acesso em: 10 maio 2026.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* Embrapa Agroindústria Tropical **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza,: , 2007.

SARAIVA, B. R. *et al.* Valorização de resíduos agroindustriais: Fontes de nutrientes e compostos bioativos para a alimentação humana. **Pubsaúde**, v. 1,, p. a007, 2018.

SCHUBERT, A. *et al.* Comparison of antioxidant activities and total polyphenolic and methylxanthine contents between the unripe fruit and leaves of ilex paraguariensis a. st. hil. **Pharmazie**, v. 62, n. 11, p. 876–880, nov. 2007.

SEWELL, S. L. The spatial diffusion of beer from its sumerian origins to today. *In: The Geography of Beer: Regions, Environment, and Societies*. Dordrecht: Springer, 2014. p. 23–29.

SHAN, B. *et al.* The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, n. 1, p. 112–119, 2007. ISSN 0168-1605. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507001778>.

SILVEIRA, A. C. da *et al.* Embrapa Florestas **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível**. Colombo,: , 2018.

TANKESHWAR, A. **MacConkey Agar: Composition, Uses, Colony Characteristics**, . 2013. Disponível em: <https://microbeonline.com/macconkey-agar-mac-composition-preparation-uses-and-colony-characteristics/>. Acesso em: 21 maio. 2026.

TELES, J. A. **Estudo da produção de mosto concentrado lupulado a partir de extrato de malte concentrado, xarope de alta maltose e lúpulo**. 2007. Dissertação (Dissertação de mestrado) — Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos Campinas, SP: 2007.

TELES, J. C.; ROVEROTO, G. P.; BARANA, A. C. Geração de resíduos em uma microcervejaria: Balanço de massa e alternativas de tratamento. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 12, n. 24, p. 14–27, 2023. Disponível em: <https://www.revistasuninter.com/revistameioambiente/index.php/meioAmbiente/article/view/1055>. Acesso em: 15 maio 2026.

THIRUGNANASAMBANDHAM, K.; SIVAKUMAR, V. Modeling and optimization of advanced oxidation treatment of beer industry wastewater using electro-fenton process. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, Wiley Hoboken, NJ: v. 34, n. 4, p. 1072–1079, 2015.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2024. ISBN 9786558821915.

VEIKO, A. G. *et al.* Quercetin, naringenin and catechin as antimicrobial agents: Flavonoids inhibit hemolysis induced by staphylococcus aureus and modify the membranes of bacteria and erythrocytes. **Molecules**, MDPI v. 28, n. 3, p. 1252, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/3/1252>. Acesso em: 10 maio 2026.

Venturini Filho, W. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blucher, 2010. v. 1.

WOLFF, S. M.; SILVEIRA, A. C. d.; LAZZAROTTO, M. Metodologia para extração de fenólicos totais e antioxidantes da erva-mate. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 21, n. 1, p. 45–54, 2019.

WU, C.-N. *et al.* Bioactive compounds with anti-oxidative and anti-inflammatory activities of hop extracts. **Food Chemistry**, v. 330,, p. 127244, 2020. ISSN 0308-8146. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620311067>.