

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA
Disciplina: 0110444 - Trabalho de Conclusão de Curso de Gestão Ambiental**

Composição isotópica das cervejas comercializadas no Brasil

Marina Guimarães de Oliveira

**Trabalho de conclusão de curso para
obtenção do título de Bacharela em
Gestão Ambiental**

**Piracicaba
2021**

Marina Guimarães de Oliveira

Composição isotópica das cervejas comercializadas no Brasil

Orientador:

Prof. Dr. PLINIO BARBOSA DE CAMARGO

**Trabalho de conclusão de curso para
obtenção do título de Bacharela em
Gestão Ambiental**

**Piracicaba
2021**

AGRADECIMENTO

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus.

As minhas amigas e amigos da faculdade, que sempre estiveram ao meu lado.

As minhas companheiras de trabalho, que sempre me apoiaram e me ajudaram a encontrar o tempo necessário para participar das aulas de campo e excursões que foram fundamentais para minha formação.

Em especial a Juliana e Marcio que me ajudaram a obter as amostras e sanar as minhas dúvidas sempre que precisei.

Este trabalho só foi possível devido a dedicação do meu namorado Denis que me incentivou todos os dias e não me deixou desistir perante as dificuldades.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador pela oportunidade e incentivo ao meu projeto de pesquisa.

Por último, quero agradecer a todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

“Todos os átomos no seu corpo vieram de uma estrela que explodiu. Os átomos da sua mão esquerda provavelmente vieram de uma estrela diferente dos átomos da mão direita. Isso é a coisa mais poética de que tenho conhecimento sobre Física: nós somos todos poeira das estrelas.”

Lawrence Krauss

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Justificativa.....	11
1.2 Objetivo	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 História da cerveja no Brasil	13
2.2 Ingredientes.....	14
2.2.1 Água	14
2.2.2 Malte	14
2.2.3 Lúpulo	15
2.2.4 Levedura.....	15
2.2.5 Adjuntos	16
2.3 Processo de fabricação da cerveja.....	16
2.4 Legislação	17
2.5 Isótopos.....	18
2.5.1 Aplicações dos isótopos estáveis	22
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 Amostragem e classificação	24
3.2 Estilos de cerveja	24
3.3 Análise isotópica.....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1 Carbono.....	26
4.2 Nitrogênio	30
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	32

REFERÊNCIAS	33
ANEXO	37

RESUMO

Composição isotópica das cervejas comercializadas no Brasil

A razão isotópica de carbono estável ($\delta^{13}\text{C}$) tornou-se uma ferramenta importante para determinar a composição e a qualidade de várias bebidas. O objetivo foi verificar se há diferença entre as cervejas brasileiras produzidas em larga escala e as artesanais. O cenário atual é diferente do descrito em estudos anteriores, pois a partir da razão isotópica de carbono é possível diferenciar três tipos de produtos fabricados no Brasil: cervejas artesanais, cervejas de puro malte em grande escala e cervejas em grande escala com adjuntos.

Palavras-chave: isótopo estável, cerveja artesanal, cerveja de larga escala, cerveja puro malte, cerveja industrial, adjuntos

ABSTRACT

Isotopic composition of beers sold in Brazil

The stable carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) has become an important tool to determine the composition and quality of various beverages. The objective was to verify if there is a difference between Brazilian beers produced on a large-scale and artisanal beers. The current scenario is different from that described in previous studies, as using the carbon isotope ratio it is possible to differentiate three types of products manufactured in Brazil: artisanal beers, large-scale pure malt beers and large-scale beers with adjuncts.

Keywords: stable isotope, artisanal beer, large-scale beer, pure malt beer, industrial beer, adjuncts

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando cervejas importadas e nacionais.	26
Figura 2- Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando cervejas nacionais artesanais, com adjunto e puro malte.....	28
Figura 3 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando as fermentações tipo ale e lager entre as cervejas nacionais.	28
Figura 4 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando os estilos encontrados nas cervejas nacionais artesanais.....	29
Figura 5 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando os estilos encontrados nas cervejas nacionais de larga escala.	29
Figura 6 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando a composição das cervejas de larga escala.	30
Figura 7 - Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$, comparando as cervejas importadas e nacionais.	31
Figura 8 - Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$, comparando as cervejas nacionais.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Abundância isotópica padrão utilizados para os cálculos dos valores de δ carbono, nitrogênio, oxigênio e deutério. 19

Tabela 2 - Elementos e seus isótopos com suas respectivas abundâncias médias. 20

1 INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa

Os isótopos são átomos de um mesmo elemento químico que possuem massas distintas, pois tem o mesmo número de prótons e número de nêutrons diferentes. A massa de um átomo é formada pela soma do número de prótons e nêutrons. Normalmente os isótopos com menor massa atômica são mais abundantes que os de maior massa. Isso ocorre naturalmente no ambiente e é a razão entre os isótopos mais raros e os mais abundantes que formam a razão isotópica (MARTINELLI et al., 2009).

A razão isotópica é uma importante ferramenta para determinar não só a composição como a qualidade de diversas bebidas, pois possibilita determinar a quantidade de C_3 e C_4 presentes na amostra, permitindo assim, identificar a presença ou não de adjuntos (MARDEGAN et al., 2013).

Em fevereiro de 2001, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, aprovou o uso da Metodologia de Análise da Razão Isotópica $^{13}C/^{12}C$ em Produtos e Subprodutos das Plantas do Ciclo Fotossintético C_3 e C_4 devido ao seu elevado grau de confiabilidade. O erro nas análises das variações naturais da razão $^{13}C/^{12}C$ é inferior ou igual a 0,2%.

Em 2019, a cerveja foi a bebida mais registrada no MAPA, com 9.950 registros, bem à frente do segundo lugar, polpa de fruta com 2.535, e dos demais, tais como o vinho com 1.676, a bebida alcoólica mista com 1.251, suco com 1.094 e cachaça com 857 registros.

Segundo o Anuário da Cerveja, publicado pelo MAPA em 2020, o setor cervejeiro expandiu rapidamente. Nos últimos vinte anos, o número de cervejarias cresceu com uma taxa média de 19,6% ao ano. Porém, se analisarmos o período dos últimos dez anos verificamos que a taxa de crescimento foi de 26,6% e 36,4% nos últimos cinco anos.

As principais adulterações na cerveja ocorrem quando são adicionados, acima dos níveis permitidos em lei, adjuntos não maltados, como por exemplo, o milho, arroz, xaropes e açúcares que possuem um custo mais baixo em substituição ao malte de cevada mais caro.

Cabe salientar que a adição em demasia de adjuntos não acarreta riscos à saúde, porém seu uso sem a explícita identificação no rótulo do produto lesa os consumidores e prejudica os produtores que trabalham corretamente, pois perdem competitividade.

Em dezembro de 2019, foi publicada a Instrução Normativa Nº 65, que estabeleceu novos padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. A legislação atual não alterou a porcentagem máxima de adjuntos cervejeiros que podem ser usados em substituição do malte ou extrato de malte na elaboração do mosto. A lei permite a adição de até 45 % de adjuntos em relação ao extrato primitivo¹. As principais modificações foram: a permissão do uso de ingredientes de origem animal ou outros ingredientes próprios para o consumo humano, além dos insumos vegetais e a utilização de diferentes microrganismos fermentativos. Há possibilidade da substituição total do lúpulo por outras ervas, neste caso o produto deverá ser classificado como “cervejas gruit”.

Tais modificações permitem maior liberdade na formulação das cervejas, sendo assim, objetivou-se com a realização deste trabalho verificar a existência ou não de diferença na composição isotópica entre cervejas produzidas em larga escala e cervejas artesanais.

1.2 Objetivo

Objetivou-se compreender o atual cenário das cervejas produzidas no Brasil verificando se há diferença ou não na composição isotópica entre cervejas produzidas em larga escala e artesanais.

¹ . A Instrução normativa nº 65, de 10 de dezembro de 2019 define o Extrato primitivo, como: a “quantidade de substâncias dissolvidas (extrato) do mosto que deu origem à cerveja e deve ser sempre maior ou igual a 5,0% em peso”.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 História da cerveja no Brasil

O processo de fabricação da cerveja está intrinsecamente ligado ao desenvolvimento da agricultura e à sedentarização dos grupos humanos. Vários indícios apontam que a fabricação da cerveja já era uma atividade consolidada tanto na China quanto no Oriente Médio, quando começaram a surgir as primeiras cidades há cerca de 6.000 a.C. (MORADO, 2017).

A cerveja é a terceira bebida mais consumida no mundo, ficando atrás somente da água e do chá, (MORADO, 2017), o que ressalta sua relevância econômica e cultural.

Segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja - SINDICERV, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja, com 13,3 bilhões de litros produzidos ao ano, atrás, somente, da China (46 bilhões de litros) e dos Estados Unidos (22,1 bilhões de litros). Em 2019, a indústria gerou R\$ 77 bilhões de reais em faturamento, equivalente a 2% do PIB. Cerca de 2 milhões de pessoas são empregadas direta ou indiretamente pelo setor cervejeiro.

A cerveja chegou ao Brasil no século XVII, trazida pela Companhia da Índias Orientais, porém após a expulsão dos holandeses em 1654, caiu no esquecimento por quase 150 anos, reaparecendo somente em 1808, com a vinda da Família Real Portuguesa (CURI, 2006; MORADO, 2017).

A produção de cerveja até o final do século XIX era artesanal e enfrentava inúmeras dificuldades. A obtenção de insumos importados, como a cevada e o lúpulo, era um desafio, tal dificuldade muitas vezes era contornada com a utilização de adição de outros cereais como o arroz, o milho e o trigo, na fabricação da cerveja. Outra dificuldade era produzir e conservar a cerveja em um país de clima tropical, já que as máquinas para o resfriamento das bebidas eram raras e caras (CURI, 2006; MORADO, 2017).

Ao longo do século XIX, surgiram várias pequenas cervejarias principalmente nas regiões sul e sudeste, algumas cresceram chegando à escala industrial. Em 1888 surge a Antarctica Paulista - Fábrica de Gelo e a Manufatura de Cerveja Brahma, que posteriormente passaram a chamar-se respectivamente Companhia Antarctica

Paulista e Companhia Cervejaria Brahma (COELHO-COSTA, 2015; MORADO, 2017).

A partir da década de 1980, o cenário cervejeiro passa por uma transformação impulsionada pela valorização da cultura da cerveja e a mudança no perfil do consumidor, devido à maior participação feminina (MORADO, 2017).

Em 1999, ocorreu a fusão entre a Companhia Antarctica Paulista e Companhia Cervejaria Brahma dando origem a AmBev (Companhia de Bebidas das Américas). Em 2004, a AmBev funde-se com a Interbrew dando origem à InBev, tornando-se o maior grupo cervejeiro do mundo (MORADO, 2017).

2.2 Ingredientes

2.2.1 Água

A água corresponde de 92 a 95% da cerveja sendo quantitativamente seu maior componente. Além da potabilidade, a água deve apresentar propriedades físico-químicas, adequadas à fabricação do estilo desejado. As cervejas ale são preparadas com águas com concentrações mais elevadas de cálcio (cerca de 350 partes por milhão), enquanto as lager são produzidas com concentrações mais baixas de cálcio (menos de 10 partes por milhão) (CURI, 2006; MORADO, 2017).

2.2.2 Malte

O malte pode ser obtido através da germinação de qualquer cereal. Porém, nem todo cereal possui as características necessárias para a fabricação da cerveja (CURI, 2006; MORADO, 2017).

Os maltes mais utilizados são os de cevada, porém, outros cereais, como trigo e centeio, também podem ser usados. O malte é produzido pelo processo de malteação, que consiste em induzir de forma controlada a germinação do grão a fim de liberar enzimas que auxiliam a quebra do amido e proteínas. Depois de germinado, o grão é seco e torrado. A torrefação do malte interfere diretamente na cor, no sabor e no aroma da cerveja (CURI, 2006; MORADO, 2017).

2.2.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) pertence à família *Cannabinaceae*, e somente as flores femininas são utilizadas na produção de cerveja, pois possuem mais 150 vezes mais resinas e óleos essenciais desejáveis que as flores masculinas. O lúpulo atua como conservante devido a sua ação bacteriostática e confere tanto aroma quanto o amargor à bebida (CURI, 2006; MORADO, 2017).

A produção de lúpulo ocorre em regiões de clima temperado. As plantas são muito sensíveis às variações de temperatura e umidade, sendo assim, suas características variam consideravelmente de acordo com o microclima da região. Existem várias iniciativas para o cultivo do lúpulo nas regiões mais frias do sul e sudeste do Brasil, porém a produção ainda não é expressiva (MORADO, 2017).

A Instrução normativa nº 65/ 2019, prevê a possibilidade da substituição total do lúpulo por outras ervas, neste caso o produto deverá ser classificado como “cervejas gruit”.

2.2.4 Levedura

Segundo Morado (2017), as leveduras mais utilizadas na produção da cerveja pertencem ao gênero *Saccharomyces*. Durante a fermentação, as leveduras consomem os açúcares disponíveis no mosto e produzem álcool e gás carbônico. Apesar de existirem várias espécies de levedo, podemos destacar as duas mais importantes para a indústria cervejeira, pois originam as cervejas ales e lager respectivamente:

Saccharomyces cerevisiae: São conhecidas como leveduras de alta fermentação, por formar uma fina camada de espuma na superfície do tanque. Trabalham melhor em temperaturas entre 15 °C e 25 °C e têm maior tolerância ao álcool, o que permite a produção de cervejas mais alcoólicas.

Saccharomyces pastorianus: São conhecidas como leveduras de baixa fermentação, costumam permanecer no fundo do tanque durante o processo fermentativo. Trabalham melhor em temperaturas mais baixas, entre 9 °C e 15 °C. São mais

sensíveis e menos tolerantes ao álcool.

2.2.5 Adjuntos

Os adjuntos são os ingredientes não essenciais à fabricação da cerveja. A lei permite a sua adição em até 45 % do mosto inicial.

O mestre cervejeiro tem autonomia para acrescentá-los de acordo com o resultado que pretende obter. Esses ingredientes podem adicionar características de aroma, cor e sabor, como podem ser utilizados em substituição ao malte de cevada que possui alto valor agregado. Independente do objetivo, deve haver transparência com o consumidor (MORADO, 2017).

Os mais utilizados pela indústria cervejeira são: o milho, o arroz, açúcar de cana e o xarope de maltose produzido a partir do milho, com o intuito de baratear o custo de produção (SLEIMAN, 2006).

Nas cervejarias artesanais, é comum encontrar rótulos que contenham ervas, frutas e especiarias para acrescentar características únicas à bebida.

2.3 Processo de fabricação da cerveja

Segundo Curi (2006), o processo de fabricação da cerveja pode ser dividido nas seguintes etapas: moagem do malte; mosturação ou tratamento enzimático do mosto; filtração; fervura; tratamento do mosto; fermentação; maturação e clarificação. Depois de pronta a cerveja pode ser pasteurizada e envasada.

Inicialmente o malte é moído, obtendo-se uma farinha grosseira. A moagem expõe o endosperma dos grãos, facilitando a ação enzimática durante a mosturação. A farinha obtida é misturada com a água e depois aquecida. As rampas de aquecimento servem para ativar e inativar enzimas que atuam na quebra de açúcares e proteínas.

O mosto é filtrado para retirar todos os componentes insolúveis. O lúpulo é adicionado ao líquido resultante sendo fervido em seguida. O processo de ebulição esteriliza a mistura e a auxilia na liberação de componentes voláteis indesejáveis.

Após a realização da fervura, o mosto lupulado sofre um resfriamento até uma temperatura de 6 °C a 15 °C, para que as leveduras possam ser adicionadas, favorecendo a transformação dos açúcares em álcool e dióxido de carbono.

O processo de fermentação da cerveja pode ser dividido em duas fases. A primeira é denominada fermentação primária e a segunda é chamada de fermentação secundária e está relacionada ao período de maturação da cerveja.

A maturação tem como objetivo refinar o sabor da cerveja pela redução do teor de diacetil, acetaldeído e ácido sulfídrico, carbonatar parcialmente o produto e clarificar o líquido através da precipitação do fermento, proteínas e sólidos insolúveis.

A cerveja é novamente filtrada para a retirada de resquícios da levedura e de outros componentes que possam ainda estar presentes, e em seguida é levemente aquecida, para a eliminação de componentes voláteis, que não o álcool.

Antes do envase a bebida pode ou não passar pelo processo de pasteurização. Caso não seja pasteurizada a cerveja é denominada chope.

2.4 Legislação

Em 08 de julho de 2019, foi publicado o decreto nº 9.902, que alterou o decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. A norma atualizou as regras para padronização, classificação, produção, registro, inspeção e fiscalização de bebidas no país. Após a nova publicação o texto tornou-se mais simples e objetivo, pois as especificações relativas à composição e caracterização das cervejas passaram a ser regulamentadas através de atos específicos.

Entre julho e dezembro de 2019, os padrões de qualidade foram regulamentados pela instrução normativa N° 54/ 2001. Somente em dezembro de 2019, foi publicada a Instrução Normativa N° 65, que estabeleceu os atuais padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria.

A legislação atual não alterou a porcentagem máxima de adjuntos cervejeiros que podem ser usados em substituição do malte ou extrato de malte na elaboração do mosto. A lei permite a adição de até 45 % de adjuntos em relação ao extrato primitivo. As principais modificações foram: a permissão do uso de ingredientes de origem animal ou outros ingredientes próprios para o consumo humano, além dos

insumos vegetais e a utilização de diferentes microrganismos fermentativos. Há possibilidade da substituição total do lúpulo por outras ervas, neste caso o produto deverá ser classificado como “cervejas gruit”.

A atualização era uma reivindicação antiga do setor cervejeiro. Com novas disposições, o registro de novos produtos ficará mais simples, além de promover uma melhora na padronização dos rótulos proporcionando maior clareza ao consumidor (MELZ, 2019).

A mudança dará maior liberdade de criação aos produtores, principalmente das cervejas artesanais, que poderão explorar ingredientes locais e leveduras nacionais na formulação de seus produtos. Além de permitir o resgate de antigas receitas de cervejas não lupuladas.

2.5 Isótopos

O átomo é a unidade fundamental da matéria, sendo composto por prótons, nêutrons e elétrons. Cada elemento químico existente na tabela periódica, possui um número atômico (Z) definido pela quantidade de prótons existentes em seu núcleo. O número de massa (A) de um elemento é formado pela soma das massas dos prótons e nêutrons (N), a massa dos elétrons é muito pequena, dessa forma não é considerada neste cálculo.

Os isótopos são átomos de um mesmo elemento químico que possuem massas distintas, pois têm o mesmo número de prótons e número de nêutrons diferentes.

Conforme descrito em Martinelli et al. (2009), os isótopos podem ser classificados como estáveis ou radioativos. Os isótopos estáveis não sofrem alteração de massa ao longo de sua existência, já os radioativos sofrem decaimento (alteram sua massa) por emissão de energia ou partículas subatômicas.

Normalmente os isótopos com menor massa atômica são mais abundantes que os de maior massa. Isso ocorre naturalmente no ambiente e é a razão entre os isótopos mais raros e os mais abundantes que formam a razão isotópica.

Segundo Calixto e Silva (2015), às razões isotópicas são normalmente representadas através da notação δ , em valores de ‰ (per mil), através da fórmula:

$$\delta = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] * 1000$$

Sendo:

R_{amostra} = razão isotópica medida na amostra

$R_{\text{padrão}}$ = razão isotópica medida no padrão de referência²

O padrão de referência para o carbono é proveniente de uma formação rochosa, na Carolina do Sul, Estados Unidos, conhecida como Pee Dee Belemnite - PDB. O ar atmosférico é a referência para o nitrogênio. Cabe ressaltar que valores positivos ou negativos de δ servem para determinar se a amostra está enriquecida (valor positivo) ou empobrecida (valor negativo) em isótopo pesado do elemento em questão, em relação ao padrão utilizado.

Tabela 1 - Abundância isotópica padrão utilizados para os cálculos dos valores de δ carbono, nitrogênio, oxigênio e deutério.

Padrão	Elemento	R
Pee Dee Belemnite	Carbono	0,0112372
Atmosfera	Nitrogênio	0,0036765
V-SMOW	Oxigênio	0,00200052
V-SMOW	Deutério	0,00015576

Fonte: Martinelli et al. (2009), p. 13. Adaptado.

A composição isotópica pode variar de acordo com os processos aos quais o elemento é submetido, como, os processos químicos, físicos e biológicos, pois geram razões isotópicas específicas. Essa variação é denominada fracionamento isotópico. Os dois principais mecanismos de fracionamento isotópico são o efeito termodinâmico e o cinético (CALIXTO e SILVA, 2015; MARTINELLI et al., 2009).

O fracionamento termodinâmico ocorre em situações de equilíbrio químico e varia em função da temperatura. Exemplo, durante a mudança de fases da água (sólido, líquido e vapor), pois nesses processos não há a quebra ou formação de

² O padrão de referência, normalmente é um material de referência do laboratório que por sua vez é calibrado contra um padrão internacional. Dessa forma, valores δ são reportados em comparação a um padrão internacionalmente reconhecido, que é arbitrariamente fixado em 0‰. (Calixto e Silva, 2015)

ligações químicas. Nesse caso o fracionamento é o resultado das diferenças da pressão de vapor das moléculas de água. Quando a água evapora, as moléculas mais leves tendem a se concentrar no ar, deixando o reservatório de água mais enriquecido em moléculas com isótopos mais pesados. Ao condensar, o oposto pode ser observado (CALIXTO e SILVA, 2015; MARTINELLI et al., 2009).

O efeito cinético geralmente está relacionado a processos físicos e biológicos. Nesse caso podem ocorrer taxas diferentes de reação para os diferentes isótopos em uma mesma reação química, pois o isótopo mais leve tende a reagir mais facilmente que o mais pesado. Exemplo, durante o processo de fotossíntese o gás carbônico presente na atmosfera sofre um processo de fracionamento ao se difundir do ar até o interior dos tecidos vegetais. Esse fracionamento favorece a entrada de isótopos mais leves no interior da planta (MARTINELLI et al. 2009).

Tabela 2 - Elementos e seus isótopos com suas respectivas abundâncias médias.

Elemento	Isótopos	Abundância Média (%)
Carbono	^{12}C	98,89
	^{13}C	1,11
Nitrogênio	^{14}N	99,34
	^{15}N	0,37
Oxigênio	^{16}O	99,76
	^{17}O	0,037
	^{18}O	0,199
Hidrogênio	^1H	98,98
	^2H	0,02

Fonte: Martinelli et al. (2009), pág. 10. Adaptado

O gás carbônico atmosférico contém dois isótopos estáveis de carbono. O ^{12}C é o isótopo mais leve e abundante (98,89%) e o ^{13}C mais pesado e raro (1,11%). Nas

plantas o carbono somente é incorporado ao tecido vegetal através do processo de fotossíntese. As plantas podem ter vias fotossintéticas distintas (C_3 , C_4 e CAM), o que resulta em diferentes níveis de discriminação isotópica (TAIZ et al., 2017).

Plantas de ciclo C_3 (ciclo de Calvin-Benson), como a cevada, o trigo e o arroz, são identificadas dessa forma, pois o primeiro composto estável da fixação do carbono formado durante o processo de fotossíntese é o ácido fosfoglicérico (PGA), um açúcar com três átomos de carbono. Esta via fotossintética confere às plantas C_3 valores isotópicos médio de cerca de -28‰ (TAIZ et al., 2017).

No ciclo fotossintético das plantas C_4 (ciclo de Hatch-Slack), como o milho, sorgo, cana-de-açúcar, o primeiro composto acumulado com a fixação do gás carbônico é uma molécula com quatro carbonos e o valor isotópico médio de -12‰ (MARTINELLI et al., 2009).

As espécies como cactos, orquídeas, bromeliáceas e outras suculentas, possuem metabolismo ácido das crassuláceas (Crassulacean Acid Metabolism - CAM), nele observamos padrões de atividade estomática muito diferente do encontrado em espécies C_3 e C_4 . As espécies CAM abrem seus estômatos predominantemente à noite e os fecham durante o dia, exatamente o oposto do ocorre nas plantas de ciclo C_3 e C_4 (TAIZ et al., 2017).

As espécies CAM podem ter valores isotópicos médios que variam entre -19‰ a -21‰ , dependendo das condições ambientais as quais a planta está exposta. Plantas em condições de estresse hídrico tendem a ter valores mais próximos das plantas C_4 , já as plantas bem hidratadas tendem a valores mais próximos às C_3 (TAIZ et al., 2017).

O nitrogênio também possui dois isótopos estáveis que podem ser encontrados na natureza nas seguintes proporções: ^{14}N (99,34%) e ^{15}N (0,37%). Mas diferente do que ocorre com o carbono, o nitrogênio é um fator limitante para o desenvolvimento vegetal, sendo assim, no decorrer do processo evolutivo as plantas desenvolveram diversos mecanismos para metabolizar diferentes fontes desse elemento, podendo adquiri-lo tanto da atmosfera por fixação biológica quanto diretamente do solo. A determinação da composição isotópica do nitrogênio em plantas envolve grande número de variáveis, o que dificulta a previsão e interpretação dos resultados. Exemplo, uma mesma espécie pode apresentar valores $\delta^{15}\text{N}$ distintos em função do seu hábitat (MARTINELLI et al., 2009).

2.5.1 Aplicações dos isótopos estáveis

À medida que mais pesquisas no campo da ciência dos isótopos são desenvolvidas, as áreas de aplicação para o conhecimento sobre os isótopos se ampliam. O seu uso possibilita a realização de estudos pouco ou não-invasivos, sendo está uma considerável vantagem em relação a outras técnicas. A metodologia isotópica possui aplicações em estudos geológicos, climatológicos, agrários, médicos, ambientais, forenses, na indústria de alimentos entre outros (EHLERINGER, 2015).

Na indústria alimentícia a análise isotópica é uma importante ferramenta para identificar diversos tipos de adulteração. A adulteração de um alimento ocorre quando há a substituição ilegal de um ingrediente ou produto por outro, normalmente com o intuito de reduzir os custos de produção aumentando assim o lucro (EHLERINGER, 2015).

A razão isotópica é utilizada para determinar não só a composição como a qualidade de diversas bebidas, pois possibilita determinar a quantidade de C_3 e C_4 presentes na amostra, permitindo assim, identificar a presença ou não de adjuntos (MARDEGAN et al., 2013). Tal Metodologia é utilizada desde 2001 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento devido a confiabilidade ao diferenciar com elevada precisão as fontes C_3 e C_4 . O erro nas análises das variações naturais da razão $^{13}C/^{12}C$ é inferior ou igual a 0,2%.

Os quatro principais ingredientes da cerveja são: água, cevada maltada, lúpulo e fermento. Segundo a legislação brasileira é permitida a adição de outros ingredientes não essenciais à fabricação da cerveja, tais insumos são denominados adjuntos, os principais são: o milho, o arroz, açúcar de cana e o xarope de maltose produzido a partir do milho, sendo este o adjunto mais utilizado pela indústria cervejeira nacional (SLEIMAN, 2006).

Os adjuntos além de possuírem um preço mais barato que a cevada maltada também contém açúcares que podem ser mais facilmente metabolizados pelas leveduras. Adicionar milho ou açúcar de cana resulta em maior teor de álcool com o mínimo de tempo e ingredientes, tornando assim muito atrativo para a indústria cervejeira (BROOKS et al., 2002).

Em Brooks et al. (2002), realizou-se um experimento controlado a fim de detectar o fracionamento isotópico durante o processo de fabricação de cerveja.

Constatou-se que o processo de fabricação não altera significativamente a assinatura isotópica da cerveja. Os valores obtidos nas amostras refletem proporcionalmente o $\delta^{13}\text{C}$ dos ingredientes utilizados. Cabe ressaltar que tanto o lúpulo quanto o fermento representam uma fração muito pequena em relação ao malte, sendo assim, esses dois componentes têm pouca influência no resultado $\delta^{13}\text{C}$ do produto final.

Nas pesquisas de Brooks et al. (2002) e Mardegan et al. (2013), a maior parte das cervejas de larga escala analisadas que foram produzidas no continente americano apresentavam adição de alguma fonte de C_4 . Porém, o oposto pode ser observado tanto nas cervejarias artesanais brasileiras quanto nas amostras das cervejas europeias, pois maioria dessas cervejas possuía valor característico de $\delta^{13}\text{C}$ para a não adição de produtos de milho ou açúcar de cana, sugerindo que eram cervejas de puro malte. No entanto, somente com a análise isotópica do carbono não é possível excluir a possibilidade do uso de adjuntos de origem C_3 , como o arroz.

Além de indicar a fonte da matéria-prima, os isótopos também podem determinar a origem geográfica do produto. Deve-se notar que a cevada provavelmente será transportada por distâncias maiores do que a água e, portanto, a composição de $\delta^{13}\text{C}$ pode não ser tão característica de localização quanto $\delta^2\text{H}/\delta^{18}\text{O}$ (CARTER; YATES; TINGGI, 2015).

O estudo realizado por Carter, Yates e Tinggi (2015), no qual foram analisadas 162 cervejas, demonstrou que a composição de $\delta^2\text{H}/\delta^{18}\text{O}$ das cervejas está fortemente correlacionada com a longitude e latitude do local de fabricação indicado. Quando esses dados foram mapeados geo-espacialmente, evidenciou a relação entre a composição isotópica das cervejas e a precipitação local, sendo possível identificar o continente de fabricação com razoável nível de precisão.

Diferente do carbono a composição de $\delta^{18}\text{O}$ da água durante a fabricação da cerveja sofre fracionamento, tornando-se progressivamente enriquecida. Um estudo realizado no Reino Unido constatou um aumento total de $\delta^{18}\text{O}$ de +1,3‰ no decorrer das etapas de produção da bebida (BRETTELL; MONTGOMERY; EVANS, 2012; CHESSON et al., 2010).

Para a determinação da autenticidade da cerveja, podemos aplicar outras abordagens em conjunto com a análise isotópica, como a análise química, análise biomolecular, separação cromatográfica, espectrometria de massa entre outros instrumentos usados para esta finalidade. Sendo uma prática comum aplicar mais de uma técnica de classificação, pois a análise multivariada de dados auxilia na obtenção

de resultados mais precisos. (KAMILOGLU, 2019).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostragem e classificação

Foram adquiridas 48 cervejas, sendo 29 artesanais e 19 de larga escala de diferentes marcas e estilos. Destas, 45 são nacionais (que foram produzidas e engarrafadas no Brasil) e 3 são importadas. As cervejas foram classificadas de acordo com: a origem, o tipo de fermentação (ale ou lager), a escala de produção (artesanal ou larga escala), a composição (com adjunto, puro malte ou com adjunto) e o estilo.

As informações como: local de fabricação, escala de produção, composição, estilo da cerveja, foram obtidas através da análise dos rótulos ou informações veiculadas preferencialmente no site das próprias marcas.

Foram enquadradas como cervejas “com adjunto”, as cervejas de larga escala que continham outras fontes de açúcares que não fossem oriundas de cereais maltados, exemplo: açúcar de cana, milho, carboidratos etc; “puro malte”, as compostas apenas com cereais maltados, como fonte de açúcares. As cervejas que se autodeclararam como artesanais foram categorizadas dessa forma independente da composição do produto.

3.2 Estilos de cerveja

Segundo a AMBEV (2019), existem mais de 150 estilos diferentes de cerveja. A grande variedade de estilos ocorre, não só devido às possibilidades de combinações entre as matérias-primas, mas também porque até mesmo pequenas mudanças no processo de fabricação, como diferentes tempos e temperaturas de cozimento, fermentação e maturação podem alterar o resultado final do produto.

As cervejas podem ser classificadas de acordo com seu teor de álcool e extrato, pelo malte usado ou de acordo com o tipo de fermentação.

Por meio das informações contidas no rótulo dos produtos, identificamos nas

amostras 25 estilos de cerveja diferentes, para evidenciar suas macro características, como cor, amargor, cereal maltado predominante entre outros atributos, as cervejas foram divididas em 6 grupos: escura, IPA, pale ale, pale lager, pilsen e trigo, a fim de identificar se as características dos estilos interferem na razão isotópica $\delta^{13}\text{C}$.

3.3 Análise isotópica

A razão isotópica de um elemento é expressa pela relação entre o isótopo raro e o isótopo mais abundante. No caso do carbono e nitrogênio, estas razões são representadas por $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, respectivamente. Como as variações naturais da razão dos isótopos estáveis são pequenas, é utilizada a notação “delta” (δ), que expressa o desvio relativo da amostra a um padrão internacional, em partes por mil (‰). Os resultados são calculados pela equação:

$$(\text{‰}) = \{R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}} - 1\} \times 1000$$

Onde, R é a relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, fornecendo, portanto, ^{13}C ou ^{15}N , respectivamente, da amostra em relação ao padrão.

O padrão utilizado para o carbono é o PDB (Rocha Carbonatada Pee Dee Belemite) e para o nitrogênio, o N_2 atmosférico.

A composição isotópica de carbono será determinada pela combustão automática da amostra em um analisador elementar EA1110, versão CN acoplado ao espectrômetro de massas Finnigan Delta Plus. O CO_2 liberado é separado de outros subprodutos da combustão por cromatografia antes de ser injetado no espectrômetro de massas. Os resultados serão expressos como ^{13}C (‰), onde:

$$^{13}\text{C} \text{ (‰)} = \{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{amostra}} / (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB}} - 1\} \times 1000$$

As análises isotópicas de carbono e nitrogênio são determinadas no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP, conforme metodologia de Farquhar et al. (1989), Schlesinger (1991) e Schimel (1995), e apresentam um erro analítico de 0,15 e 0,25 ‰ para ^{13}C e ^{15}N e de no máximo de 3% para as concentrações.

As amostras foram preparadas com o auxílio de uma pipeta e em cada cápsula

de estanho contendo polímeros porosos Chromosorb®, foi colocada uma amostra de 3,0 mL de cerveja. Como padrão interno de calibração, utilizou-se folhas de cana-de-açúcar, $\delta^{13}\text{C} = -12,7 \text{ ‰}$. Dessa forma, foi possível avaliar a composição isotópica da cerveja.

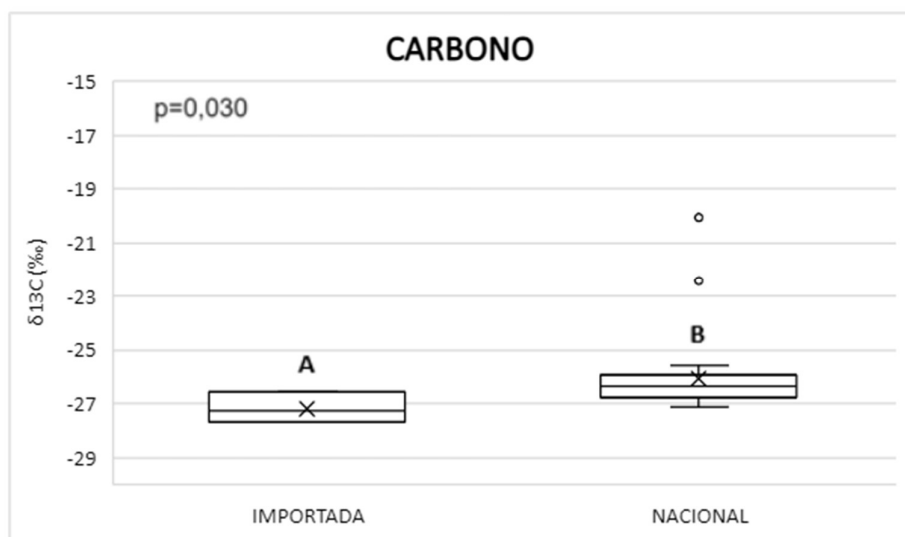
Os resultados obtidos foram analisados para verificação da normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e em seguida como os resultados obtidos não são paramétricos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Carbono

A variação do $\delta^{13}\text{C}$ considerando todas as amostras foi de -27,70 a -20,08 ‰. O valor de $\delta^{13}\text{C}$ das importadas variou entre -27,70 a -26,56 ‰, as nacionais variaram entre -27,11 a -20,08 ‰. Assim como os resultados obtidos em Brooks et al. (2002) e Mardegan et al. (2013), entre as cervejas importadas e nacionais houve diferença entre os grupos de $p = 0,030$, conforme figura 1.

Figura 1 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando cervejas importadas e nacionais.



Fonte: Própria autora, 2021.

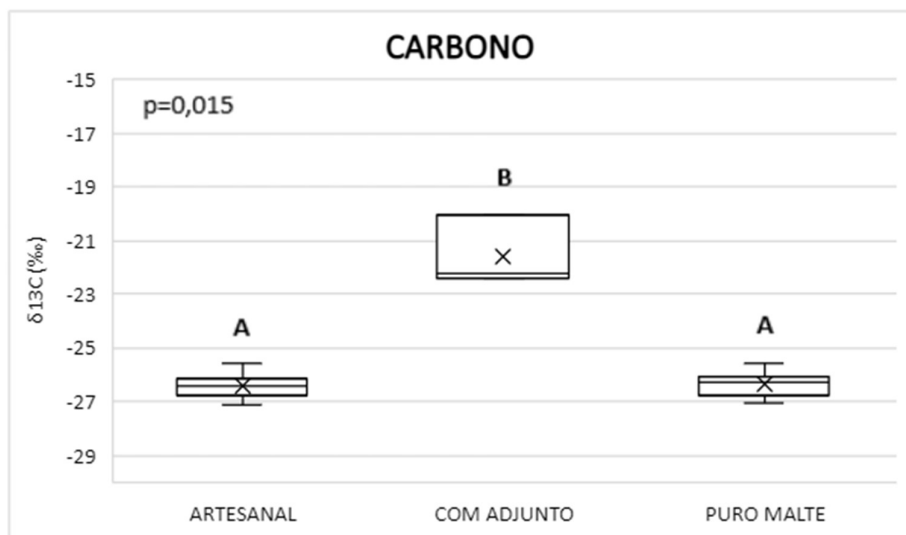
No estudo de 2002, o $\delta^{13}\text{C}$ das amostras de cerveja analisadas variou entre $-27,3\text{‰}$ a $-14,9\text{‰}$, e a assinatura isotópica encontrada nas cervejas brasileiras era de $-19,7 \pm 2,4\text{‰}$, o que indicava alta presença de adjuntos de origem C_4 e comparação com as cervejas europeias com variação média de $-25,6 \pm 1,5\text{‰}$. Nesse período a produção de cerveja no Brasil se limitava as indústrias de grande porte.

Na pesquisa de 2013, a indústria cervejeira vivenciava a ascensão de inúmeras marcas, sendo a maioria delas vinculadas a micro e pequenas cervejarias. O valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ para as cervejas brasileiras de grandes cervejarias era de $-19,6 \pm 0,5\text{‰}$, enquanto as de cervejarias artesanais apresentavam valor médio de $-24,8 \pm 0,6\text{‰}$. As cervejas europeias tiveram uma assinatura isotópica média de $-25,3 \pm 0,9\text{‰}$. Tanto as cervejas artesanais quanto importadas apresentavam valores característicos de plantas C_3 , e as cervejas de grandes companhias continuavam apresentando valores mais pesados, indicando alto teor de C_4 em sua composição.

Tanto em Brooks et al. (2002) quanto em Mardegan et al. (2013), os fabricantes de cerveja não eram obrigados a especificar a presença de adjuntos no rótulo de seus produtos, sendo assim, os consumidores não dispunham de informações importantes no momento da compra.

Para identificar se os fatores que ocasionaram a diferenciação entre os grupos são os mesmos encontrados nos estudos anteriores, que apontavam como sendo a composição da cerveja o fator preponderante na variação $\delta^{13}\text{C}$. As cervejas nacionais, grupo que apresentou maior variação, foram divididas em: artesanal, com adjunto e puro malte, conforme figura 2. No gráfico já é possível perceber uma forte relação entre a composição da cerveja e a variação isotópica. Porém, para descartar a influência de outros fatores, outras informações foram analisadas.

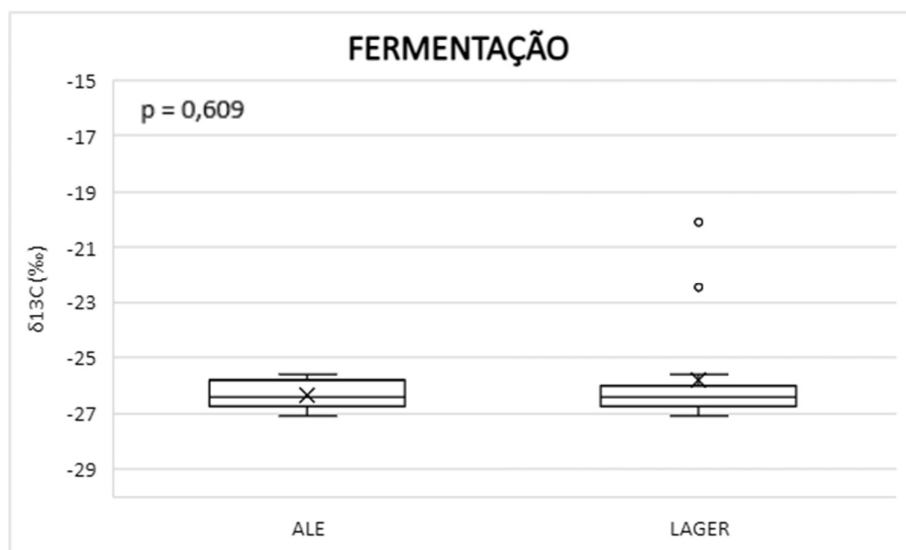
Figura 2- Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando cervejas nacionais artesanais, com adjunto e puro malte.



Fonte: Própria autora, 2021.

As cervejas nacionais foram avaliadas quanto a fermentação, mas não houve diferenciação entre cervejas ale e lager, conforme figura 3.

Figura 3 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando as fermentações tipo ale e lager entre as cervejas nacionais.

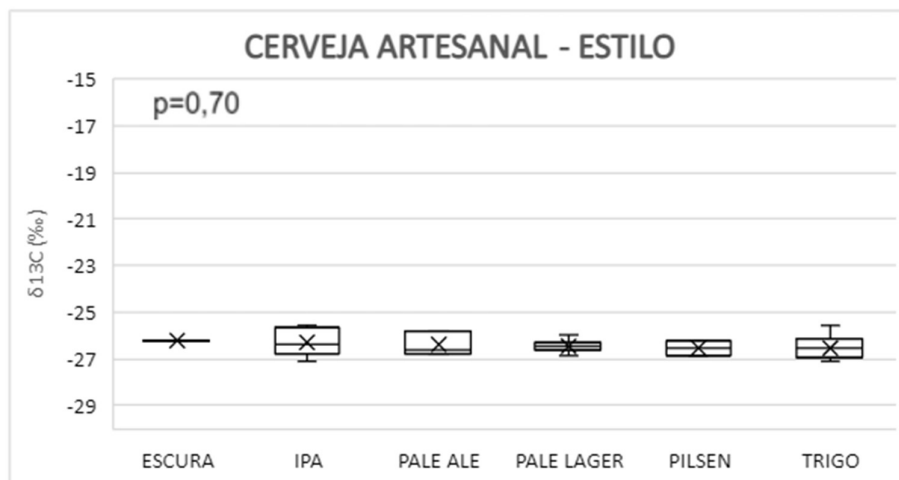


Fonte: Própria autora, 2021.

Para avaliar a interferência do estilo da cerveja na variação $\delta^{13}\text{C}$, as cervejas foram separadas entre artesanais e larga escala. Entre as cervejas artesanais o estilo

não influenciou na assinatura isotópica, conforme figura 4.

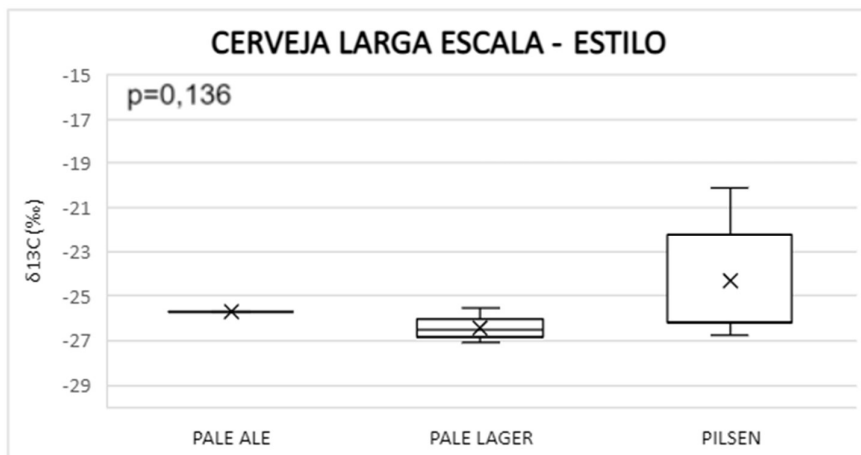
Figura 4 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando os estilos encontrados nas cervejas nacionais artesanais.



Fonte: Própria autora, 2021.

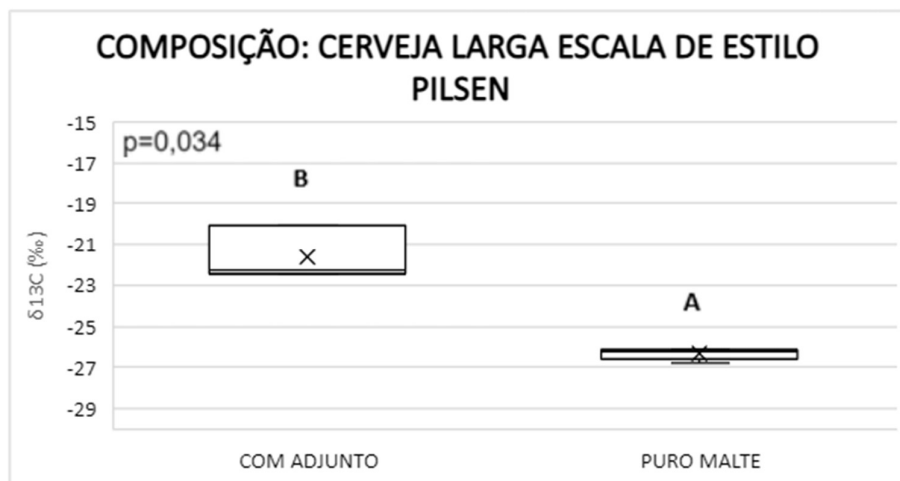
As cervejas de larga escala também não apresentaram variação, mas como houve um desvio maior entre as cervejas do estilo pilsen, conforme figura 5. Este grupo foi separado de acordo com a composição (puro malte e com adjunto), figura 6, verificou-se que a amplitude do desvio estava fortemente relacionada com a composição da cerveja. As cervejas com adjunto contêm ingredientes de origem C4, como milho e outros carboidratos, fazendo com sejam isotopicamente mais pesadas do que às puro malte.

Figura 5 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando os estilos encontrados nas cervejas nacionais de larga escala.



Fonte: Própria autora, 2021.

Figura 6 - Gráfico de $\delta^{13}\text{C}$, comparando a composição das cervejas de larga escala.



Fonte: Própria autora, 2021.

A pouca influência da fermentação e dos estilos já era esperada, pois em Brooks et al. (2002), o experimento realizado demonstrou que o processo de fabricação da cerveja, não modifica significativamente a razão entre os isótopos de carbono. Os valores obtidos nas amostras refletem proporcionalmente o $\delta^{13}\text{C}$ dos ingredientes utilizados.

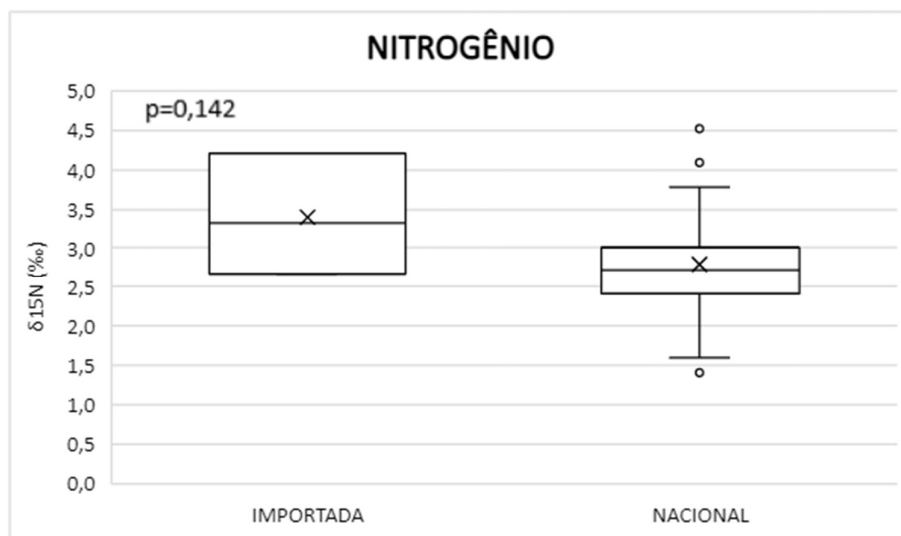
Porém, diferente do cenário descrito em Brooks et al. (2002) e Mardegan et al. (2013), no qual não havia distinção entre as cervejas nacionais produzidas em larga escala, atualmente já é possível identificar isotopicamente três classes distintas de produtos fabricados no país: as cervejas artesanais, as de larga escala puro malte e as de larga escala com adjunto.

4.2 Nitrogênio

Os dados referentes aos isótopos de nitrogênio variaram entre 1,41 e 4,52 ‰, tal amplitude de resultados já era esperada, pois segundo dados do Governo do Brasil, país importa grande parte dos insumos cervejeiros, o que influencia tanto a variação $\delta^{15}\text{N}$ entre cervejas importadas e nacionais, figura 7, quando a variação entre os diferentes tipos de cervejas nacionais, figura 8. Conforme descrito em Martinelli et al. (2009), os valores de nitrogênio refletem as características do solo onde foram cultivados os insumos. A variação $\delta^{15}\text{N}$, demonstrou-se pouco relevante para a

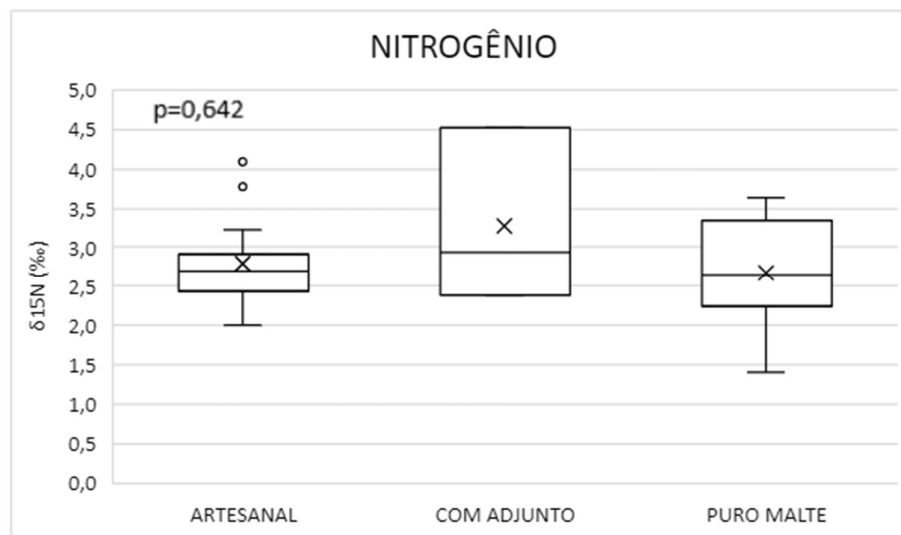
distinção entre os diferentes tipos de cerveja e constatação da presença de adjuntos.

Figura 7 - Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$, comparando as cervejas importadas e nacionais.



Fonte: Própria autora, 2021.

Figura 8 - Gráfico de $\delta^{15}\text{N}$, comparando as cervejas nacionais.



Fonte: Própria autora, 2021.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diferente do cenário descrito em Brooks et al. (2002) e Mardegan et al. (2013), no qual não havia diferença entre as cervejas brasileiras produzidas em larga escala, atualmente já é possível identificar isotopicamente três classes distintas de produtos fabricados no país: as cervejas artesanais, as de larga escala puro malte e as de larga escala com adjunto.

O setor cervejeiro está em constante transformação impulsionado pelas mudanças no perfil do consumidor que está cada vez mais informado e exigente, demandando novas experiências e produtos diversificados.

As cervejas de larga escala são voltadas a um público mais abrangente em relação às cervejas de fabricação artesanal, mas mesmo tendo como principal foco a quantidade de vendas e o menor custo de produção, já consegue produzir um produto diferenciado em relação às cervejas com adjuntos.

A cerveja artesanal, por outro lado, possui uma produção mais voltada ao público que pretende degustar a cerveja. A cerveja artesanal é produzida em menor escala, permitindo que o mestre cervejeiro explore combinações de sabores e aromas criando um produto único, e os ingredientes utilizados na fabricação dessas cervejas são selecionados de forma criteriosa e direcionados à experiência do consumidor.

O mestre cervejeiro tem autonomia para acrescentar os adjuntos de acordo com o resultado que pretende obter. Esses ingredientes podem adicionar características de aroma, cor e sabor, como podem ser utilizados em substituição ao malte de cevada, que possui alto valor agregado. Independente do objetivo, deve haver transparência com o consumidor, cabendo a ele decidir qual o produto que melhor atende às suas necessidades e expectativas.

REFERÊNCIAS

AMBEV. **Conheça os diferentes tipos de cerveja**. Disponível em: <https://www.ambev.com.br/blog/categoria/cerveja/conheca-os-diferentes-tipos-de-cerveja/>. Publicado em 29 de mar. 2019. Acesso em 28 de mar. 2021.

BRASIL. **Decreto nº 6.871**, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei no 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BRASIL. **Decreto nº 9.902**, de 08 de julho de 2019. Altera o Anexo ao Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei N° 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

BRASIL. **Instrução normativa nº 4**, de 05 de fevereiro de 2001. Aprova a Metodologia de Análise da Razão Isotópica que especifica em Produtos e Subprodutos das Plantas do Ciclo Fotossintético que menciona.

BRASIL. **Instrução normativa nº 54**, de 05 de novembro de 2001. Regulamento Técnico MERCOSUL de Produtos de Cervejaria.

BRASIL. **Instrução normativa nº 65**, de 10 de dezembro de 2019. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria.

BRETTELL, Rhea; MONTGOMERY, Janet; EVANS, Jane. Brewing and stewing: the effect of culturally mediated behaviour on the oxygen isotope composition of ingested fluids and the implications for human provenance studies. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 5, p. 778-785, 2012.

BROOKS, J.R. et al. Heavy and light beer: a carbon isotope approach to detect C₄ carbon in beer of different origins, styles and prices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.22, p.6413-6418, 2002.

CARTER, J. F.; YATES, H. S. A.; TINGGI, U. A global survey of the stable isotope and chemical compositions of bottled and canned beers as a guide to authenticity. **Science & Justice**, v. 55, n. 1, p. 18-26, 2015.

CAXITO, Fabrício A.; SILVA, Almir Vieira. Isótopos estáveis: fundamentos e técnicas aplicadas à caracterização e proveniência geográfica de produtos alimentícios. **Geonomos**, 2015.

CHESSON, Lesley A. et al. Links between purchase location and stable isotope ratios of bottled water, soda, and beer in the United States. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 12, p. 7311-7316, 2010.

COELHO-COSTA, Ewerton Reubens. A bebida de Ninkasi em terras tupiniquins: O mercado da cerveja e o Turismo Cervejeiro no Brasil. **RITUR-Revista Iberoamericana de Turismo**, v. 5, n. 1, p. 22-41, 2015.

CURI, Roberto Abdallah. **Produção de cerveja utilizando cevada como adjunto de malte**. Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP de Botucatu, 2006.

EHLERINGER, James R. et al. Stable isotopes trace the truth: from adulterated foods to crime scenes. **Elements**, v. 11, n. 4, p. 259-264, 2015.

FARQUHAR, Graham D.; EHLERINGER, James R.; HUBICK, Kerry T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual review of plant biology**, v. 40, n. 1, p. 503-537, 1989.

Governo do Brasil. **Mercado cervejeiro cresce no Brasil e aumenta interesse pela produção nacional de lúpulo e cevada**. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2021/08/mercado-cervejeiro-cresce-no-brasil-e-aumenta-interesse-pela-producao-nacional-de-lupulo-e-cevada>. Publicado em 06 de ago. 2021. Acesso em 05 de ago. 2021.

KAMILOGLU, Senem. Authenticity and traceability in beverages. **Food chemistry**, v. 277, p. 12-24, 2019.

MARDEGAN, Sílvia Fernanda et al. Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers — A comparison between large-and small-scale breweries. **Journal of food composition and analysis**, v. 29, n. 1, p. 52-57, 2013.

MARTINELLI, Luiz Antonio et al. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. Oficina de Textos, São Paulo, p. 356, 2009.

MELZ, M. **Nova Instrução Normativa do Mapa traz modificações sobre padronização, classificação e registro de cervejas**. Disponível em: <https://abracerva.com.br/2019/12/11/nova-instrucao-normativa-do-mapa-traz-modificacoes-sobre-padronizacao-classificacao-e-registro-de-cervejas/>. Acesso em 05 de abr. 2021.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Anuário da cerveja: 2019**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/publicacoes/anuario-da-cerveja-2019>. Acesso em 26 de dez. 2020.

MORADO, R. **Larousse da cerveja - A história e as curiosidades de uma das bebidas mais populares do mundo**. Alaúde Editorial, São Paulo, p. 440, 2017.

SCHIMEL, David S. Terrestrial ecosystems and the carbon cycle. **Global change biology**, v. 1, n. 1, p. 77-91, 1995.

SCHLESINGER, William H. Biogeochemistry: An Analysis of Global Change. **Academic Press**, p. 443, 1991.

SINDICERV. **O setor em números**. Disponível em: <https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>. Acesso em 28 de mar. 2021.

SLEIMAN, M. **Determinação do percentual de malte de cevada em cervejas tipo pilsen utilizando os isótopos estáveis do carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e do nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$)**.

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP de Botucatu, 2006.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. cap. 9, p. 245-266.

ANEXO

	ESCALA DE PRODUÇÃO	FERMENTAÇÃO	ESTILO AMPLO	ESTILO	CERVEJA	COMPOSIÇÃO	ORIGEM	15N	13C
1	ARTESANAL	ALE	ESCURA	STOUT	DAMA BIER - STOUT	ARTESANAL	BRASIL	2,42	-26,21
2	ARTESANAL	ALE	IPA	AMERICAN DOUBLE IPA	DOUBLE IPA HBC 472 - HEMMER	ARTESANAL	BRASIL	2,78	-25,74
3	ARTESANAL	ALE	IPA	AMERICAN IPA	ST. PATRICK'S - COFFEE IPA	ARTESANAL	BRASIL	2,43	-27,09
4	ARTESANAL	ALE	IPA	AMERICAN IPA	BADEN BADEN - IPA - MARACUJÁ	ARTESANAL	BRASIL	2,26	-26,15
5	ARTESANAL	ALE	IPA	INDIAN PALE ALE	BLUMENAU IPA - HEMMER	ARTESANAL	BRASIL	3,22	-25,58
6	ARTESANAL	ALE	IPA	INDIAN PALE ALE	DAMA BIER - IPA	ARTESANAL	BRASIL	2,92	-26,64
7	ARTESANAL	ALE	IPA	INDIAN PALE ALE	QUINTA DO MALTE - MAMBA	ARTESANAL	BRASIL	2,70	-25,58
8	ARTESANAL	ALE	IPA	SESSION IPA	STRAAT - SESSION IPA	ARTESANAL	BRASIL	2,34	-26,77
9	ARTESANAL	ALE	IPA	SESSION IPA	WÄLS - SESSION CITRA	ARTESANAL	BRASIL	2,74	-26,68
10	ARTESANAL	ALE	PALE ALE	AMERICAN PALE ALE	LEOPOLDINA - APA	ARTESANAL	BRASIL	2,99	-26,77
11	ARTESANAL	ALE	PALE ALE	AMERICAN PALE ALE	OL BEER LOKI APA	ARTESANAL	BRASIL	2,63	-25,84
12	ARTESANAL	ALE	PALE ALE	SESSION PALE ALE	LEOPOLDINA - SESSION PALE ALE	ARTESANAL	BRASIL	2,41	-26,62
13	ARTESANAL	ALE	PALE LAGER	AMERICAN PALE LAGER	DAMA BIER - QI	ARTESANAL	BRASIL	2,72	-26,46
14	ARTESANAL	ALE	TRIGO	CATHARINA SOUR	BLONDINE TROPICAL UMBU	ARTESANAL	BRASIL	2,81	-25,61
15	ARTESANAL	ALE	TRIGO	CATHARINA SOUR	ST. PATRICK'S - ACID TRIP	ARTESANAL	BRASIL	2,01	-26,25
16	ARTESANAL	ALE	TRIGO	GOLDEN ALE	BADEN BADEN - GOLDEN - CANELA E FRUTAS VERDELHAS	ARTESANAL	BRASIL	3,77	-26,78
17	ARTESANAL	ALE	TRIGO	HEFE WEISS	DAMA BIER - WEISS	ARTESANAL	BRASIL	2,45	-26,72
18	ARTESANAL	ALE	TRIGO	WEISSBIER	QUINTA DO MALTE - TIMBER WEIS	ARTESANAL	BRASIL	2,53	-27,05
19	ARTESANAL	ALE	TRIGO	WHEAT ALE	QUINTA DO MALTE - ORANGE WHEAT ALE RUBRA	ARTESANAL	BRASIL	2,84	-26,40
20	ARTESANAL	ALE	TRIGO	WITBIER	BADEN BADEN - WITBIER - COENTRO E LARANJA	ARTESANAL	BRASIL	4,18	-27,11
21	ARTESANAL	ALE	TRIGO	WITBIER	PRAYA - PREMIUM WITBIER	ARTESANAL	BRASIL	3,03	-26,15
22	ARTESANAL	LAGER	ESCURA	DARK LAGER	TEMPLARSKA - DARK	ARTESANAL	REPÚBLICA CHECA	4,21	-26,56
23	ARTESANAL	LAGER	PALE LAGER	AMERICAN LAGER	COLORADO - RIBEIRÃO	ARTESANAL	BRASIL	2,68	-26,01
24	ARTESANAL	LAGER	PALE LAGER	AMERICAN LAGER	DAMA BIER - AMERICAN LAGER - DRY CITRA HOP	ARTESANAL	BRASIL	2,67	-26,39
25	ARTESANAL	LAGER	PALE LAGER	PALE LAGER	PAULISTÂNIA - MARCO ZERO	ARTESANAL	BRASIL	2,80	-26,39
26	ARTESANAL	LAGER	PALE LAGER	PREMIUM LAGER	CACILDIS	ARTESANAL	BRASIL	4,09	-26,55
27	ARTESANAL	LAGER	PALE LAGER	STANDARD AMERICAN LAGER	BIER HOFF ORIGINAL	ARTESANAL	BRASIL	2,89	-26,87
28	ARTESANAL	LAGER	PILSEN	PILSEN	DAMA BIER - PILSEN	ARTESANAL	BRASIL	2,23	-26,20
29	ARTESANAL	LAGER	PILSEN	PILSEN	ST. PATRICK'S - IMPERIAL PILS	ARTESANAL	BRASIL	2,67	-26,90
30	LARGA ESCALA	ALE	PALE ALE	PALE ALE	EISENBACH - PALE ALE	PURO MALTE	BRASIL	2,60	-25,75
31	LARGA ESCALA	ALE	TRIGO	PREMIUM WEISSBIER	MECKLENBURGER - WEISSBIER	PURO MALTE	ALEMANHA	3,32	-27,26
32	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	AMERICAN LAGER	BLACK PRINCESS GOLD	PURO MALTE	BRASIL	3,15	-26,16
33	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	AMERICAN LAGER	DEVASSA - PURO MALTE TROPICAL	PURO MALTE	BRASIL	3,41	-26,56
34	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	AMERICAN LAGER	PETRA - ORIGEM	PURO MALTE	BRASIL	3,63	-26,39
35	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	MUNICH HELLES	SPATEN - MUNICH	PURO MALTE	BRASIL	2,29	-25,85
36	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	PREMIUM AMERICAN LAGER	ALMADA	PURO MALTE	BRASIL	2,30	-26,81
37	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	PREMIUM AMERICAN LAGER	BRAHMA DUPLO MALTE	PURO MALTE	BRASIL	2,72	-26,91
38	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	PREMIUM AMERICAN LAGER	HEINEKEN	PURO MALTE	BRASIL	3,32	-26,50
39	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	PREMIUM AMERICAN LAGER	MOINHO REAL	PURO MALTE	BRASIL	1,41	-27,06
40	LARGA ESCALA	LAGER	PALE LAGER	PREMIUM LAGER	ESTRELLA GALICIA - LA CASA DE PAPEL	PURO MALTE	BRASIL	3,56	-25,57

41	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	BURGUESA	COM ADJUNTO	BRASIL	4,52	-20,08
42	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	WIENBIER 55 - PILSEN	COM ADJUNTO	BRASIL	2,38	-22,44
43	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	WIENBIER 555 - SUPER PILSEN	COM ADJUNTO	BRASIL	2,94	-22,25
44	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	BOHEMIA - PURO MALTE	PURO MALTE	BRASIL	2,99	-26,16
45	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	EISENBAHN - PILSEN	PURO MALTE	BRASIL	2,44	-26,21
46	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	IMPÉRIO	PURO MALTE	BRASIL	1,60	-26,19
47	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PILSEN	IMPERIO LAGER	PURO MALTE	BRASIL	2,16	-26,76
48	LARGA ESCALA	LAGER	PILSEN	PREMIUM PILSNER	MECKLENBURGER	PURO MALTE	ALEMANHA	2,68	-27,70