

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**DETERMINAÇÃO DO PERCENTUAL DE MALTE DE CEVADA
EM CERVEJAS TIPO PILSEN UTILIZANDO OS ISÓTOPOS ESTÁVEIS
DO CARBONO ($\delta^{13}\text{C}$) E DO NITROGÊNIO ($\delta^{15}\text{N}$)**

MURIS SLEIMAN

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em Agronomia
(Energia na Agricultura).

BOTUCATU - SP
Fevereiro – 2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**DETERMINAÇÃO DO PERCENTUAL DE MALTE DE CEVADA
EM CERVEJAS TIPO PILSEN UTILIZANDO OS ISÓTOPOS ESTÁVEIS
DO CARBONO ($\delta^{13}\text{C}$) E DO NITROGÊNIO ($\delta^{15}\text{N}$)**

MURIS SLEIMAN

Orientador: Prof. Dr. Waldemar G. Venturini Filho

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu,
para obtenção do título de Doutor em Agronomia
(Energia na Agricultura).

BOTUCATU - SP

Fevereiro – 2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E
TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO
UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Sleiman, Muris, 1971-
S632d Derteminação do percentual de malte de cevada em cer-
vejas tipo Pilsen utilizando os isótopos estáveis do car-
bono ('delta' 'inpot.13C') e do nitrogênio ('delta'
'inpot.15N')/ Muris Sleiman. - Botucatu : [s.n.], 2006.
xi, 87 f. : il. color., gráfs, tabs.

Tese (Doutorado)- Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu, 2006
Orientador: Waldemar G.Venturini Filho
Inclui bibliografia

1. Cerveja - Legislação. 2. Carbono - Isótopos. 3. Nitro-
gênio - Isótopos. 4. Espectrometria de massa. 5. Bebidas
fermentadas. 6. Adulterações. I. Venturini Filho, Walde-
mar G. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mes-
quita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências
Agronômicas. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS

CAMPUS DE BOTUCATU

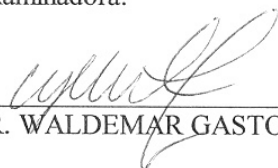
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO: "DETERMINAÇÃO DO PERCENTUAL DE MALTE DE CEVADA EM
CERVEJAS TIPO PILSEN UTILIZANDO OS ISÓTOPOS ESTÁVEIS
DO CARBONO ($\delta^{13}\text{C}$) E DO NITROGÊNIO ($\delta^{15}\text{N}$)"**

ALUNO: MURIS SLEIMAN

ORIENTADOR: PROF. DR. WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO

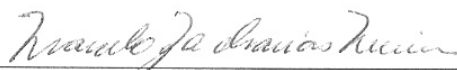
Aprovado pela Comissão Examinadora:



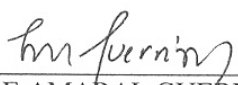
PROF. DR. WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO



PROF. DR. CARLOS DUCATTI



PROF. DR. MARCELO ZACHARIAS MOREIRA



PROF. DR. IRAE AMARAL GUERRINI



DR. JOÃO BATISTA DE A. E. SILVA

Data da Realização: 03 de fevereiro de 2006.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Nascido em 19 de maio de 1971, na cidade de Botucatu, Muris Sleiman, desde criança observava as pessoas saborearem um líquido de coloração amarela e amargo, que espumava quando era servido.

Agrônomo, formado pela Faculdade de Ciências Agronômicas, sempre desejou trabalhar na cadeia agroindustrial. E assim fez... Iniciou sua vida profissional numa Cervejaria, onde percebeu que havia muito a ser estudado sobre aquele “líquido de coloração amarela e amargo que espumava”.

Muris publicou artigos científicos sobre cervejas e outras bebidas, além de lecionar *Processamento de produtos agropecuários*, dentre outras disciplinas, em Colégio Técnico Agrícola.

De volta à Faculdade de Ciências Agronômicas em 1999, em meio à crise energética que o país atravessava, Muris iniciou seu curso de mestrado em Agronomia. Em 2002, defendeu sua dissertação *Produção de cerveja com extrato de malte nas formas de xarope e pó: análise físico-química, sensorial e energética*. Nesse mesmo ano, teve o primeiro contato com o tema *isótopos estáveis*. A partir de então, vislumbrou a possibilidade de desenvolver esta metodologia analítica e aplicá-la no ramo cervejeiro.

Em 2004, o trabalho *Isotopic analysis of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) performed in raw material used for Pilsen beer brewing*, realizado em conjunto com outros autores, foi premiado no *V Brazilian Meeting on Chemistry of Foods and Beverages*, ocorrido na cidade de São Carlos – SP.

Muris é um dos autores do capítulo sobre *água mineral* do livro *Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado* coordenado por Waldemar G. Venturini Filho, lançado em 2005 pela editora Edgard Blücher.

A meus pais

Germinda e Antoine

*exemplos de vida, integridade e honestidade e que
sempre souberam valorizar a educação de seus filhos*

Ofereço

A minha esposa

Juliana

*pelo amor, compreensão, carinho e dedicação
oferecidos, e que me apoiou incondicionalmente*

Dedico

AGRADECIMENTO ESPECIAL

“¹⁵Então exalte a alegria, porque ao homem nenhuma coisa tem melhor debaixo do sol do que comer, beber e alegrar-se. Então a alegria o acompanhará no seu trabalho nos dias da sua vida que Deus lhe dá debaixo do sol.

¹⁶Aplicando-me a conhecer a sabedoria, e a ver o trabalho que há sobre a terra, pois nem de dia nem de noite vê o homem sono nos seus olhos, ¹⁷então vi toda a obra de Deus, e vi que o homem não pode entender a obra que se faz debaixo do sol. Por mais que trabalhe o homem para a buscar, não a achará, e ainda que diga o sábio que a virá a conhecer, nem por isso a poderá compreender.” (Eclesiastes 8:15-17)

“³Bendito seja o Deus e Pai de nosso Senhor Jesus Cristo, o qual nos abençoou com todas as bênçãos espirituais na regiões celestiais em Cristo.” (Efésios 1: 3)

“¹Portanto, se há algum conforto em Cristo, se alguma consolação de amor, se alguma comunhão no Espírito, se alguns entranháveis afetos e compaixões, ²completai o meu gozo, para que tenhais o mesmo modo de pensar, tendo o mesmo amor, o mesmo ânimo, pensando a mesma coisa. ³Nada façais por contenda ou por vanglória, mas por humildade, cada um considere os outros superiores a si mesmo.” (Filipenses 2:1-3)

SENHOR DEUS

Agradeço-te pelas chuvas de Bênçãos derramadas em nossas vidas.

Em **JESUS CRISTO** conforto meu coração, pois Tu és Fiel **SENHOR**.

AGRADECIMENTOS

Compartilho a alegria da realização deste árduo, porém prazeroso trabalho com todos aqueles que não mediram esforços para me auxiliar nesta tarefa, dentre os quais destaco:

Prof. Dr. Waldemar G. Venturini Filho e Prof. Dr. Carlos Ducatti pela amizade e apoio na orientação deste trabalho.

Prof. Dr. Toshio Nojimoto pela orientação nas análises estatísticas.

Prof. Dr. João Batista de Almeida e Silva, Prof. Dr. Marcelo Zacharias Moreira, Prof. Dr. Iraê Amaral Gerrini, Prof. Dr. Carlos Ducatti e Prof. Dr. Waldemar G. Venturini Filho pelas sugestões apresentadas na defesa desta tese.

Prof. Dr. Zacarias Xavier de Barros, Prof. Dr. Kleber Pereira Lanças e Rosângela Cristina Moreci pela amizade e apoio recebido.

Amigos Dr. Élvio Cardoso Queiróz, Evandro Tadeu da Silva, Roberto Abdallah Curi, Silvia Regina Américo Maschette, Cibele Regina de Souza, Andressa Milene Parente Nogueira e Thaís Felício Copola pelo apoio recebido.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento por ter acreditado na idéia e pelo envio das amostras de cervejas.

Cervejarias, maltarias e demais fabricantes de matérias-primas, por terem enviado amostras e fornecido levedura cervejeira.

FAPESP que concedeu Bolsa de auxílio à Pesquisa (03/05467-2).

Sessão de Pós Graduação e sessão de transportes (FCA), FundBio e Centro de Isótopos Estáveis (IBB) pelo apoio.

Meus pais Antoine Elias Sleiman e Germinda A. Dorini Sleiman, minha irmã Nádia Sleiman pela compreensão e presença constantes.

A minha esposa Juliana Rossi Moretti Sleiman pelo amor, carinho e dedicação.

Todas as demais pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Item	SUMÁRIO	Página
	SUMÁRIO.....	VI
	LISTA DE TABELAS.....	VIII
	LISTA DE FIGURAS.....	XI
	RESUMO.....	01
	SUMMARY.....	03
1.	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	04
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	08
2.1.	Matérias-primas.....	08
2.2.	Legislação	10
2.2.1.	Legislação sobre cerveja.....	10
2.2.2.	Rotulagem dos produtos.....	13
2.2.3.	Proteção e defesa do consumidor.....	14
2.3.	Isótopos estáveis	14
2.3.1.	Isótopos de carbono e os ciclos fotossintéticos.....	17
2.3.2.	Isótopos de nitrogênio.....	18
2.3.3.	Fracionamento isotópico.....	19
2.3.4.	Diluição isotópica.....	21
2.4.	Aplicações de isótopos estáveis em bebidas.....	21
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1.	Matérias-primas.....	24
3.2.	Produção de padrões de referência.....	26
3.3.	Análise dos isótopos estáveis de ^{13}C e ^{15}N	28
3.3.1.	Expressão dos resultados.....	29
3.4.	Cervejas comerciais tipo Pilsen.....	32
3.4.1.	Caracterização físico-química das cervejas.....	33
3.4.2.	Análise visual do rótulo.....	33
3.5.	Estudo de correlação entre percentual de malte e preço da cerveja.....	33

4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1.	Análise isotópica das matérias-primas.....	34
4.2.	Análise isotópica dos fermentados padrões e suas misturas.....	41
4.2.1.	Carbono-13.....	41
4.2.2.	Nitrogênio-15.....	49
4.3.	Análise das cervejas comerciais.....	52
4.3.1.	Análise isotópica.....	52
4.3.2.	Análise físico-química.....	63
4.3.3.	Análise visual do rótulo.....	69
4.3.4.	Estudo de correlação entre percentual de malte e preço da cerveja.....	71
5.	CONCLUSÕES.....	76
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

Tabela	LISTA DE TABELAS	Página
1	Principais produtores mundiais de cerveja em 2004.....	04
2	Consumo <i>per capita</i> médio de cerveja em alguns países.....	05
3	Quantidade máxima de açúcares vegetais não provenientes de cereais, permitida em cervejas, segundo a legislação brasileira (Decreto nº 2.314) e a legislação do Mercosul (IN-054).....	11
4	Características de alguns adjuntos amiláceos utilizados em cerveja.....	11
5	Comparação da classificação da cerveja quanto à proporção de malte de cevada, segundo a legislação brasileira (Decreto nº 2.314) e a legislação do Mercosul (IN-nº054).....	12
6	Abundância natural dos isótopos estáveis (átomos %) e suas moléculas gasosas comumente utilizadas em espectrometria de massas.....	15
7	Razão isotópica absoluta dos padrões internacionais.....	17
8	Origem das matérias-primas.....	25
9	Densidade dos mostos e percentual de malte utilizado para as misturas.....	26
10	Distribuição das cervejas coletadas pelo MAPA, por Região.....	32
11	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de cevadas.....	34
12	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de malte e extrato de malte.....	35
13	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de derivados de milho.....	37
14	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de arroz.....	38
15	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de lúpulos.....	38
16	$\delta^{13}\text{C}$ nas amostras de açúcar de cana.....	39
17	Percentual de malte (Z_{grits}) das misturas de malte e <i>grits</i> , valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados (W_{grits}) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração (h_{grits}) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.....	41
18	Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores Z_{grits} e W_{grits}	42
19	Percentual de malte (Z_{HMCS}) das misturas de malte e HMCS, valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados (W_{HMCS}) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração (h_{HMCS}) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.....	44
20	Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores Z_{HMCS} e W_{HMCS} .	45

21	Percentual de malte ($Z_{açúcar}$) das misturas de malte e açúcar, valores de $\delta^{13}C$ observados ($W_{açúcar}$) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração ($h_{açúcar}$) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.....	46
22	Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores $Z_{açúcar}$ e $W_{açúcar}$	46
23	Faixa de incerteza ($\delta^{13}C$) para os padrões de referência produzidos com plantas do ciclo fotossintético C_4	49
24	Percentual de malte (Z_{arroz}) das misturas de malte e arroz, valores de $\delta^{15}N$ observados (W_{arroz}) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração (h_{arroz}) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.....	50
25	Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores Z_{arroz} e W_{arroz}	50
26	Análises isotópicas de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ para cervejas comerciais tipo Pilsen fabricadas nas regiões sul (S), sudeste (SE), norte/centro-oeste (NC), nordeste (NE) e para as extras (EX).....	52
27	Valores de $\delta^{13}C$ para cervejas comerciais tipo Pilsen e Pilsen extra com o intervalo de PMP de malte encontrado para as retas de calibração com <i>grits</i> , HMCS e açúcar.....	56
28	Valores de $\delta^{15}N$ para cervejas comerciais tipo Pilsen com o intervalo de PMP de malte encontrado para a reta de calibração com arroz.....	61
29	Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes da região Sul.	64
30	Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes da região Sudeste.....	65
31	Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes das regiões Norte e Centro-Oeste.....	67
32	Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes da região Nordeste.....	68
33	Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen extra.....	69
34	Ingredientes declarados nos rótulos das amostras de cervejas.....	70
35	Preços de cervejas em <i>long neck</i> praticados na cidade de São Paulo e o percentual de malte encontrado para cada amostra.....	71

36	Regressão linear realizada com os preços médios (R\$) em função do percentual do malte das cervejas embaladas em <i>long neck</i> , ao nível de 90 % de confiança.....	72
37	Preços de cervejas em lata praticados na cidade de São Paulo e o percentual de malte encontrado para cada amostra.....	73
38	Regressão linear realizada com os preços médios (R\$) em função do percentual do malte das cervejas embaladas em lata, ao nível de 90 % de confiança.....	73

Figura	LISTA DE FIGURAS	Página
1	Exemplo teórico de gráfico de regressão linear invertida.....	30
2	$\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas matérias-primas utilizadas na fabricação de cervejas.....	40
3	$\delta^{13}\text{C}$ nas amostras de açúcar de cana.....	40
4	Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e <i>grits</i> , com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados (W_{grits}) de $\delta^{13}\text{C}$	43
5	Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e HMCS, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados (W_{HMCS}) de $\delta^{13}\text{C}$	45
6	Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e açúcar, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados ($W_{açúcar}$) de $\delta^{13}\text{C}$	48
7	Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e arroz, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados (W_{arroz}) de $\delta^{15}\text{N}$	51
8	Correlação entre o percentual de malte e o preço (R\$) de cervejas embaladas em garrafa <i>long neck</i> , ao nível de 90 % de confiança.....	72
9	Correlação entre o percentual de malte e o preço (R\$) de cervejas embaladas em lata, ao nível de 90 % de confiança.....	74

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para quantificar a proporção de malte e adjunto utilizada na elaboração de cervejas do tipo Pilsen. Além disso, verificou-se a possível ocorrência de fraude nas cervejas comerciais fabricadas no Brasil e foi avaliada a correlação entre o percentual de malte com o preço de varejo da bebida. Para isso, foi testada a metodologia de isótopos estáveis através dos elementos químicos carbono (^{13}C) e nitrogênio (^{15}N). Matérias-primas cervejeiras (malte, *grits* de milho, quirera de arroz, xarope de maltose (HMCS) e açúcar de cana), oriundas de diferentes regiões geográficas, foram usadas para a produção de mostos puros e misturas destes, a fim de produzir fermentados padrões de referência para a construção de “retas de calibração”, a partir das quais se propôs um modelo de comportamento para a população de cervejas, através de análise de regressão linear invertida. Também foi calculado um intervalo de confiança ao nível de 90% para a quantificação do percentual mais provável (PMP) de malte presente nas cervejas. Posteriormente, foram feitas análises isotópicas e físico-químicas de cervejas comerciais de dezessete estados brasileiros produtores da bebida. A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que a cevada e o malte assemelham-se entre si para os dois isótopos analisados, não sendo possível sua diferenciação. As análises de $\delta^{13}\text{C}$ são mais indicadas para

se calcular o PMP de malte para cervejas elaboradas com malte e adjunto proveniente de planta de ciclo fotossintético C_4 , enquanto que as análises de $\delta^{15}N$ são recomendadas para o cálculo do PMP de malte em amostras de cerveja elaboradas com malte e arroz (C3). Foram analisadas 161 amostras de cervejas, sendo que 91,3 % utilizaram malte e adjuntos derivados de planta de ciclo C_4 em sua formulação, 4,3 % apresentaram arroz, 4,3 % eram cervejas puro malte. Deste total, 28,6 % apresentaram-se na faixa de incerteza legal, quanto ao percentual de malte e 3,7 % estão adulteradas com menos de 50 % de malte em sua formulação, de acordo com a legislação em vigor.

PERCENTAGE DETERMINATION OF BARLEY MALT IN PILSEN BEER BREWING
 USING CARBON ($\delta^{13}\text{C}$) AND NITROGEN ($\delta^{15}\text{N}$) STABLE ISOTOPES. Botucatu, 2006.
 87p. Tese (Doutorado em Agronomia / Energia na Agricultura – Faculdade de Ciências
 Agronômicas, Universidade Estadual Paulista).

Author: MURIS SLEIMAN

Adviser: WALDEMAR GASTONI VENTURINI FILHO

SUMMARY

The objective of this work was to develop a methodology to quantify the proportion of malt and the adjunct used in the Pilsen beer brewing, to verify the possible occurrence of fraud in beer brewed in Brazil and to evaluate the correlation between the percent of malt with the beer retail price. Therefore, the methodology of stable isotopes using the chemical elements carbon (^{13}C) and nitrogen (^{15}N) was tested. Raw material of beer (malt, corn grits, rice, high maltose corn syrup and sugar cane) coming from different geographical regions, were used for the production of pure worts and their mixtures. These mixtures turned fermented standards of reference to make calibration straight lines, from which a model was proposed by inverted linear regression analysis, that to conduct for all Pilsen beer. Also a range of trust was calculated at a level of 90 % to quantify the most likely percentage (MLP) of malt present in beer. After that, stable isotopic analyses and physical-chemical analyses were made of brewing beer from seventeen Brazilian States brewers of beer. The results showed that barley and malt are similar in the two analyzed isotopes, not being possible to separate them. The analysis of $\delta^{13}\text{C}$ presented the MLP of malt in brewed beer with malt and the adjunct coming from the C_4 plant, and the analysis of $\delta^{15}\text{N}$ provided the MLP of malt in beer brewed with malt and rice (both C_3 plant). One hundred sixty one samples of Brazilian beer were analyzed, from which 91,3 % used malt and adjuncts of the C_4 plant in its formulation, 4,3 % showed rice, 4,3% were classify like pure malt beer. From the total, 28,6 % were in the doubt range as for the MLP of malt and 3,7 % were adulterated with less than 50 % of malt in its formulation.

Keywords: beer, Pilsen, malt, carbon, nitrogen, IRMS, stable isotope, legislation, adulteration

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil bateu seu recorde de produção de cerveja em 2004, porém, apesar deste dado favorável, perdeu uma posição no *ranking* mundial (Tabela 1), encerrando o ano como o quinto maior produtor mundial de cerveja (SINDICERV, 2005b). A quarta posição foi perdida para a Rússia, que também recebeu investimentos de grandes companhias nos últimos anos (NOTÍCIAS, 2005).

Tabela 1 – Principais produtores mundiais de cerveja em 2004.

País	Volume (bilhões de litros / ano)
China	27,0
Estados Unidos	23,6
Alemanha	10,5
Rússia	9,0
Brasil	8,5

Fonte: SINDICERV (2005b)

O setor cervejeiro brasileiro é considerado o mais importante no mercado sul-americano (COMBINACIÓN, 2005) e um dos melhores do mundo (BRASIL, 2005). Nos últimos anos, as indústrias cervejeiras investiram mais de R\$ 3 bilhões em novas fábricas e ampliações das já existentes (SINDICERV, 2005a). Atualmente, o maior grupo cervejeiro do mundo é belga-brasileiro, com fábricas em 32 países, produção anual de 19,2 bilhões de litros de cerveja (ALMEIDA E SILVA, 2005), e possui duas de suas marcas dentre as dez com maior volume de vendas em 2003 (WINTER, 2005). Além das grandes companhias instaladas no país, nos últimos anos surgiram empresas regionais que fabricam produtos com qualidade, aptos a concorrer com os tradicionais (SINDICERV, 2005b).

Mais da metade (50,3 %) do volume de cerveja no ano de 2003 foi consumido em bares (ACNIELSEN, 2005). O Estado de São Paulo é o maior consumidor da bebida, correspondendo a 27 % do mercado cervejeiro nacional, sendo que 15 % estão concentrados na capital (STELLA ARTOIS, 2005), onde todas as classes sociais (alta, média e baixa) consomem o produto (IKEDA, 2005, citado por ROMERO, 2005). O consumo na região sudeste está em torno de 48,4 milhões de hL e representa 57,5 % da participação em vendas de cerveja do país (MERCADO, 2004). Porém, o país apresenta consumo *per capita* médio de 47,6 litros/ano (Tabela 2), inferior a países de clima temperado como República Checa, Alemanha, Estados Unidos e Japão (SINDICERV, 2005a).

Tabela 2 – Consumo *per capita* médio de cerveja em alguns países.

País	Volume (litros/ano por habitante)
República Checa	158,0
Alemanha	117,7
Reino Unido	101,5
Austrália	92,0
Estados Unidos	84,0
Espanha	78,3
Japão	56,0
México	50,0
Brasil	47,6

Fonte: Adaptado de SINDICERV (2005a)

A Pesquisa Industrial Anual de Produto levantou os principais produtos da indústria brasileira e constatou ampliação do mercado de cerveja em 1999 (IBGE, 2002), sendo que as vendas atingiram R\$ 7,95 bilhões no ano de 2003 (IBGE, 2003).

Como o setor cervejeiro é um ramo em expansão no país, torna-se alvo de fraude, conforme o *site* do Jornal Nacional (PARAÍSO, 2002). A CPI da Pirataria apurou a existência de cerveja “pirata” no mercado brasileiro (LAGO, 2003), fato que foi confirmado por apreensões de caixas de cervejas falsificadas em Goiás (FREIRE, s/d.), no Rio de Janeiro (CERVEJA, 2004 e DEPÓSITOS, 2004) e em Minas Gerais (DEBIAN, 2005).

A utilização de adjuntos na fabricação de cervejas é permitida por lei em vários países (VENTURINI FILHO, 2000), e são vários os tipos de matérias-primas e aditivos autorizados (ENGLMANN E MIEDANER, 2005). A composição de açúcares dos adjuntos líquidos é muito próxima à encontrada em mosto produzido somente com malte (SLEIMAN, 2002) e as características de fermentabilidade são equivalentes às receitas que combinam malte a *grits* de milho ou arroz e/ou açúcar de cana à cerveja (CORN PRODUCTS BRASIL, 2005).

Além disso, como o malte é tradicionalmente cotado em dólar, há dificuldade de uma política de longo prazo por parte das indústrias. Os adjuntos apresentam menores custos de produção em relação ao malte (VENTURINI FILHO, 2000), e os adjuntos líquidos, dentre os quais o principal é o xarope de maltose de milho (HMCS), possuem preços competitivos (CORN PRODUCTS BRASIL, 2005).

Análises convencionais realizadas em cerveja não quantificam a proporção de malte e de adjuntos empregados na sua formulação, dificultando a fiscalização e detecção de produtos fora dos padrões de identidade e qualidade exigidos por lei.

Face à esta problemática, levantou-se a seguinte questão: Há metodologia analítica para tal análise? A hipótese levantada é de que até o presente momento, não foi desenvolvido método analítico para essa quantificação.

Em reunião realizada em 2002 no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais em Ciências da Vida (CIE) do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Botucatu, representantes do Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) apresentaram particular interesse no desenvolvimento de uma metodologia adequada e confiável para quantificar a proporção de malte e adjuntos em cervejas.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para a quantificação da proporção malte e adjunto utilizados na fabricação de cervejas do tipo Pilsen, utilizando-se isótopos estáveis de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$).

Também, foi verificada a possível existência de adulteração nas cervejas comerciais do tipo Pilsen fabricadas no Brasil, e avaliado se o percentual de malte presente na cerveja tem influência no preço da bebida praticado no varejo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Matérias-primas

A cevada (*Hordeum* sp) é uma cultura milenar e atualmente é o quarto cereal mais colhido no mundo. Dentre os tipos de cevada existentes, somente aquela com características para a produção de cerveja é cultivada comercialmente no Brasil. Sua produção está concentrada na região Sul do país, porém há áreas de cultivo no centro-oeste e em algumas regiões do estado de São Paulo (CATI, 2005). O Brasil possui potencial para ser auto-suficiente na produção de cevada (BORGES, 2004), e seria necessário elevar os 136 mil hectares cultivados da planta para 700 mil hectares, para que isso aconteça (FISPAL, 2004).

A cevada é transformada em malte através do processo de maltagem, que consiste na germinação do cereal, sob condições de temperatura, umidade e aeração controlados (ALMEIDA E SILVA, 2005), a fim de se produzir enzimas apropriadas para a hidrólise de amido e outros polissacarídeos (LEHNINGER, 1995), interrompendo o processo através de secagem do grão (VENTURINI FILHO, 2000). O Brasil é um dos maiores consumidores de malte de cevada do mundo, porém a indústria nacional produz apenas 30 % da demanda, utilizando cevada nacional (CATI, 2005).

Alguns produtores de cevada possuem contrato com a indústria do malte para a venda da produção, garantindo assim, preço mínimo semelhante ao do trigo. O custo de produção de cevada cervejeira na região de cerrado foi de R\$ 1.000,00/ha em 2002 (RADICIONE, 2002). O malte representa cerca de 10 % do custo industrial da cerveja (OLIVEIRA, 1996). No Brasil, o custo médio da cerveja na saída da fábrica é de R\$ 0,60 por litro (um dos menores do mundo), desconsiderando a incidência de impostos até que o produto chegue ao consumidor (SINDICERV, 2005b).

Os adjuntos podem ser usados como matéria-prima alternativa, em substituição parcial do malte na produção de cerveja (VENTURINI FILHO, 2000). São vários os adjuntos que podem ser utilizados no processo cervejeiro, dentre os quais, os mais utilizados estão o milho, o arroz e o açúcar de cana. Destes, talvez o milho seja o principal deles, a partir do qual se produz o xarope de maltose (HMCS), considerado o adjunto mais utilizado pela indústria cervejeira nacional.

As flores femininas do lúpulo (*Humulus lupulus*) conferem sabor amargo e aroma característicos à cerveja (VENTURINI FILHO, 2000). As dosagens de lúpulo são de 1,5 a 4,5 g/L (ALMEIDA E SILVA, 2005), e ainda segundo o autor, proteínas, lipídios, celulose, açúcares e aminoácidos encontram-se em pequenas proporções nesta matéria-prima, portanto, apenas os óleos essenciais, substâncias minerais, polifenóis e resinas são fundamentais no processo cervejeiro, apesar de serem altamente voláteis.

A água é a matéria-prima mais abundante dentre todas, devendo apresentar alguns requisitos básicos, que assegurem uma adequada produção do mosto com as características desejáveis (VENTURINI FILHO, 2000). Compostos orgânicos e saio dissolvidos na água influenciam diretamente processos químicos e enzimáticos, que ocorrem durante a fermentação e, assim interferem na qualidade da cerveja produzida (ALMEIDA E SILVA, 2005).

2.2. Legislação

2.2.1. Legislação sobre cerveja

O Decreto¹ nº 2.314 define cerveja como a bebida obtida pela fermentação alcoólica de mosto cervejeiro oriundo de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. O parágrafo 2º do artigo 64 estabelece que parte do malte de cevada poderá ser substituída por adjuntos (cevada, arroz, trigo, centeio, milho, aveia e sorgo, integrais, em flocos ou a sua parte amilácea) e por carboidratos de origem vegetal. A quantidade de carboidrato² (açúcar) empregada na elaboração da cerveja não pode ser superior a 15 % na cerveja clara, 50 % na cerveja escura e 10 % na cerveja extra, em relação ao seu extrato primitivo³ (BRASIL, 1997).

Em 2001 foi publicada a Instrução Normativa⁴ nº 054 (IN-054) que estabelece padrões de identidade e qualidade dos produtos de cervejaria e aplica-se a comercialização entre os Estados que compõem o Mercosul, além de importações extra-territorial. A IN-054 define cerveja como a bebida resultante da fermentação do mosto de malte de cevada ou seu extrato, submetido previamente a um processo de cocção, adicionado de lúpulo. A fermentação deve ocorrer mediante a presença de levedura cervejeira e uma parte do malte ou do seu extrato poderá ser substituída por adjuntos cervejeiros (BRASIL, 2001). Quando se tratarem de açúcares vegetais não provenientes de cereais, a quantidade empregada em relação ao extrato primitivo é limitada conforme o tipo de cerveja produzida (Tabela 3).

¹ Decreto nº 2.314 de 04/09/1997 regulamenta a Lei nº 8918 de 14/07/1994, que dispõe sobre a padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas no Brasil (BRASIL, 1997).

² Carboidratos (açúcar): A legislação estabelece que esses açúcares são sacarose (açúcar refinado ou cristal), açúcar invertido, glicose, frutose e maltose, enquanto que Carboidratos transformados são os derivados da parte amilácea dos cereais obtidos através de transformações enzimáticas (BRASIL, 1997).

³ Extrato primitivo é a quantidade de sólidos solúveis apresentada pelo mosto de malte de origem da cerveja, ou seja, antes do início do processo fermentativo (BRASIL, 1997), e também definido como a quantidade de substâncias dissolvidas (extrato) do mosto, que deu origem à cerveja e se expressa em porcentagem em peso (BRASIL, 2001).

⁴ Instrução Normativa nº 054, de 05/11/2001 aprovou o Regulamento Técnico Mercosul de Produtos de Cervejaria (BRASIL, 2001).

Tabela 3: Quantidade máxima de açúcares vegetais não provenientes de cereais, permitida em cervejas, segundo a legislação brasileira (Decreto nº 2.314) e a legislação do Mercosul (IN-054).

	Decreto nº 2.314	IN-054
Cervejas claras	15 %	10 %
	(10% para cervejas extras)	
Cervejas escuras	50 %	25 %
		(50 % para cervejas tipo Malzbier)

Cervejas com adjunto em sua composição são mais leves, atendendo melhor às necessidades do mercado consumidor brasileiro. Cada empresa define a proporção de malte e adjunto em seus produtos, conforme lhe convém, seguindo uma tendência mundial de aumento de adjuntos por parte das cervejarias. Entretanto, seu uso abusivo poderia resultar em cerveja pouco encorpada e com má qualidade de espuma (VENTURINI FILHO, 2000). A Tabela 4 mostra características de alguns adjuntos amiláceos empregados na formulação de cervejas.

Tabela 4: Características de alguns adjuntos amiláceos utilizados em cerveja.

adjunto amiláceo	umidade (%)	extrato (%)	proteína (%)	lipídio (%)	temp.de gomificação (°C)
<i>grits</i> de milho	12	90	9,5	0,9	62-74
<i>grits</i> de arroz	12	92	7,5	0,6	61-78
flocos de milho	9	83	9,5	0,9	-

Fonte: HOUGH (1985)

A IN-054 também estabeleceu que adjuntos cervejeiros são as matérias-primas (cevada cervejeira, cereais malteados ou não-malteados, amidos e açúcares de origem vegetal) que substituem parcialmente o malte ou o extrato de malte na elaboração da cerveja e seu emprego não poderá ser superior a 45% em relação ao extrato primitivo (BRASIL, 2001), conforme mostra a Tabela 5.

Tabela 5: Comparação da classificação da cerveja quanto à proporção de malte de cevada, segundo a legislação brasileira (Decreto nº 2.314) e a legislação do Mercosul (IN-nº054).

Decreto nº 2.314	<u>cerveja puro malte:</u> 100% de malte de cevada, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares. <u>cerveja:</u> malte de cevada maior ou igual a 50%, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares. <u>cerveja com o nome do vegetal predominante:</u> malte de cevada maior que 20% e menor que 50%, em peso, sobre o extrato primitivo, como fonte de açúcares.
Instrução Normativa nº 054	<u>cerveja 100% malte ou de puro malte:</u> elaborada a partir de um mosto cujo extrato primitivo provém exclusivamente de cevada malteada. <u>cerveja:</u> elaborada a partir de um mosto cujo extrato primitivo contém um mínimo de 55% em peso malte de cevada. <u>cerveja de ... (nome do cereal ou dos cereais majoritários):</u> elaborada a partir de um mosto cujo extrato primitivo provém majoritariamente de adjuntos cervejeiros. Poderá ter um máximo de 80% em peso da totalidade dos adjuntos cervejeiros em relação ao seu extrato primitivo (com o mínimo de 20% em peso de malte). Quando dois ou mais cereais contribuírem com a mesma quantidade para o extrato primitivo, todos devem ser citados.

A cerveja, ainda, pode ser denominada de acordo com o seu tipo: Pilsen, Export, Lager, Dortmunder, München, Bock, Malzbier, Ale, Stout, Porter, Weissbier, Alt, etc. (BRASIL, 1997).

A IN-054 proíbe, entre outras práticas, a adição de qualquer tipo de álcool à cerveja, qualquer que seja sua procedência.

Desde 1516, vigora na Alemanha o *Reinheitsgebot* ou a chamada “Lei da Pureza”, a qual estabelece que as cervejas devem ser produzidas somente com água, malte de cevada e lúpulo (ALMEIDA E SILVA, 2005). A levedura, usada como auxiliar na fabricação, foi introduzida à Lei após sua descoberta por Louis Pasteur.

2.2.2. Rotulagem dos produtos

Os rótulos de cerveja devem apresentar caracteres visíveis e legíveis contendo informações sobre o fabricante e o produto, necessitando de aprovação prévia por parte do MAPA. As informações exigidas por lei (BRASIL, 1997) são apresentadas a seguir:

- o nome do fabricante, do padronizador, do envasador e do importador (quando se tratar de bebida importada);
- o endereço do estabelecimento de industrialização ou de importação;
- o número do registro do produto no MAPA ou o número do registro do estabelecimento importador;
- a denominação do produto;
- a marca comercial;
- os ingredientes;
- a expressão "Indústria Brasileira";
- o conteúdo, expresso na unidade correspondente de acordo com normas específicas;
- a graduação alcoólica expressa em porcentagem de volume alcoólico;
- a identificação do lote;
- o prazo de validade;
- frase de advertência.

Embora deva-se declarar os ingredientes utilizados na fabricação de cerveja, não é necessária a declaração do percentual usado de cada um deles. Na declaração dos aditivos deverão ser indicados a sua função principal e seu nome completo ou seu número no INS (Sistema Internacional de Numeração - Codex Alimentarius FAO/OMS).

Rótulos de produto nacional que contiver texto em idioma estrangeiro deverão apresentar a respectiva tradução em português, com idêntica dimensão gráfica. Entretanto, o rótulo da bebida destinada à exportação poderá ser escrito, no todo ou em parte, no idioma do país de destino, sendo vedada a comercialização dessa bebida, com esse rótulo, no mercado interno.

A IN-054 obriga a declaração do conteúdo alcoólico (com exceção da cerveja sem álcool), expresso em porcentagem em volume, com tolerância de $\pm 0,5$ % vol. O uso de corante caramelo para a padronização da coloração típica da cerveja não requer sua declaração no rótulo (BRASIL, 2001).

2.2.3. Proteção e defesa do consumidor

No capítulo III, artigo 6º do Código de Proteção e Defesa do Consumidor (Lei nº8.078 de 11/09/1990) estão inseridos direitos básicos do consumidor, dentre os quais estabelece que os diferentes produtos e serviços devem trazer informação adequada e clara, com especificação correta de quantidade, características, composição, qualidade, preço e riscos que apresentam. O artigo 31, do capítulo V, que trata das práticas comerciais, descreve que a apresentação de produtos deve assegurar essas informações corretas e precisas na língua portuguesa (MUKAI, 1991). No capítulo II, em seu artigo 4º, há o reconhecimento da vulnerabilidade do consumidor no mercado de consumo (inciso I).

A produção de alimentos deve ser a mais transparente possível, devido à sua ligação com a saúde pública (ALVES, 2002).

O inciso II do artigo 7º do Capítulo II (Adendo especial sobre a Lei nº 8.137, de 27 de dezembro de 1990), afirma que é crime vender ou expor à venda mercadoria cuja embalagem, tipo, especificação, peso ou composição esteja em desacordo com as prescrições legais, ou que não corresponda à respectiva classificação oficial (COSTA JÚNIOR, 1991).

O Decreto nº 2.314 (BRASIL, 1997) considera como infração a adulteração, falsificação ou fraude da bebida e sua matéria-prima.

2.3 Isótopos estáveis

A palavra isótopo originou-se do grego (*iso* = igual, *topos* = lugar) e significa dizer que isótopos ocupam a mesma posição na tabela periódica dos elementos (KELLY, 2003). Isótopos são átomos de um mesmo elemento com o mesmo número de prótons e diferente número de massa (prótons e nêutrons), ou seja, apresentam propriedades

químicas iguais e propriedades físicas diferentes (BOUTTON, 1991). Isótopos estáveis são aqueles que não emitem radiação.

Isótopos estáveis de interesse biológico como o carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre ocorrem naturalmente (DUCATTI, 2000). Cada elemento apresenta um isótopo leve, em geral mais abundante (^{12}C , ^1H , ^{16}O , ^{14}N , ^{32}S), e um ou mais isótopos pesados (^{13}C , ^2H , ^{17}O , ^{18}O , ^{15}N , ^{33}S , ^{34}S , ^{36}S), conforme a Tabela 6.

Tabela 6: Abundância natural dos isótopos estáveis (átomos %) e suas moléculas gasosas comumente utilizadas em espectrometria de massas.

elemento	isótopo leve	átomos %	isótopo pesado	átomos %	gás
hidrogênio	^1H	99,985	^2H	0,015	H_2
carbono	^{12}C	98,89	^{13}C	1,11	CO_2
nitrogênio	^{14}N	99,63	^{15}N	0,37	N_2
oxigênio	^{16}O	99,759	^{17}O	0,037	CO_2
			^{18}O	0,204	
enxofre	^{32}S	95,00	^{33}S	0,76	SO_2
			^{34}S	4,22	

Fonte: Adaptado de Kelly (2003)

A medida relativa, adimensional, é expressa na terminologia *delta* (δ), que compara o valor da razão de isótopos da amostra em relação a um padrão internacional pré-estabelecido, através das equações 1 e 2.

$$\delta^{13}\text{C} = \left(\frac{R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}}{R_{\text{padrão}}} \right) * 1000 \quad (1)$$

$$\delta^{15}\text{N} = \left(\frac{R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}}{R_{\text{padrão}}} \right) * 1000 \quad (2)$$

Sendo: $\delta^{13}C$ = terminologia simplificada do enriquecimento isotópico relativo da amostra em relação ao padrão internacional PDB ($\delta\text{‰ }^{13}C$, PDB) para o elemento carbono,

$\delta^{15}N$ = terminologia simplificada do enriquecimento isotópico relativo da amostra em relação ao padrão internacional nitrogênio atmosférico ($\delta\text{‰ }^{15}N$, N_2 atm) para o elemento nitrogênio,

$R_{amostra}$ = razão isotópica de $^{13}C/^{12}C$ ou $^{15}N/^{14}N$ da amostra (adimensional),

$R_{padrão}$ = razão isotópica de $^{13}C/^{12}C$ ou $^{15}N/^{14}N$ do padrão (adimensional).

A variação da razão de isótopos estáveis de carbono ($^{13}C/^{12}C$) é medida com alta precisão através de espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS). O uso da espectrometria de massa de baixa resolução para a análise das variações naturais admite um desvio padrão de ordem de 0,2 ‰ na mensuração de $^{13}C/^{12}C$ nas amostras, e de 0,3 ‰ na mensuração de $^{15}N/^{14}N$ (DUCATTI et al., 1979).

É necessário que a amostra seja transformada em sua forma gasosa (Tabela 6) a fim de se realizarem as leituras, assim como o padrão de referência. A forma gasosa mais comumente utilizada para a análise do carbono é o CO_2 , e para nitrogênio é o N_2 (DUCATTI, 2000). Apesar da reprodutibilidade e exatidão das mensurações realizadas em IRMS, há restrições quanto ao manuseio e preparo das amostras, exigindo-se qualidade durante sua conversão em gás (combustão completa), a fim de prevenir o fracionamento isotópico (KELLY, 2003). Exatidão, limite de quantificação, linearidade, faixa de trabalho e precisão são parâmetros que devem ser conhecidos num método quantitativo (MARMIROLI et al., 2003).

Na prática as amostras são analisadas utilizando-se uma referência de laboratório previamente calibrada por um dos padrões internacionais (Tabela 7), que apresentam valores próximos a zero. Resultados positivos indicam que a amostra é mais pesada que o referido padrão e resultados negativos indicam que a amostra é mais leve.

O padrão internacional utilizado para determinação de $^{13}C/^{12}C$ é obtido a partir da formação *Pee Dee Belemnite* (PDB), da Carolina do Sul – EUA (O’LEARY, 1993, SCHIMEL, 1993, e KELLY, 2003) e o padrão internacional para nitrogênio é N_2 atmosférico (BARRIE e PROSSER, 1996).

Tabela 7: Razão isotópica absoluta dos padrões internacionais.

padrão internacional	elemento	razão isotópica
<i>Vienna standart mean ocean water (V-SMOW)</i>	$^2\text{H}/^1\text{H}$	0,00015576
	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0020052
	$^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0003730
<i>Vienna Pee Dee Belemnite (V-PDB)</i>	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	0,0112372
	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0020671
	$^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$	0,0003790
Nitrogênio atmosférico (N_2 atm)	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	0,0036765
<i>Vienna Cañon Diable Meteorite Troilite (V-CDT)</i>	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	0,0450045
	$^{33}\text{S}/^{32}\text{S}$	0,0081000

Fonte: Adaptado de BARRIE e PROSSER (1996)

2.3.1. Isótopos de carbono e os ciclos fotossintéticos

Três grupos de plantas (C_3 , C_4 e CAM) assimilam de forma diferente o CO_2 atmosférico durante seus ciclos fotossintéticos (CONTREIRAS, 1992). As duas principais vias bioquímicas para a fixação de carbono são as de plantas com o ciclo fotossintético de Calvin – Benson (denominado C_3) e de plantas com ciclo fotossintético de Hatch – Slack (denominado C_4). Essa denominação se deve em função dos produtos iniciais formados conterem 3 e 4 átomos de carbono, respectivamente (SCHIMEL, 1993). As plantas de interesse para o ramo cervejeiro são dos grupos C_3 e C_4 .

As plantas de ciclo fotossintético C_3 absorvem o CO_2 atmosférico através dos estômatos presentes nas folhas, que é transferido para as células do mesófilo, onde ocorre a síntese orgânica. Este processo é conhecido como ciclo fotossintético de Calvin – Benson. Neste grupo de plantas, a enzima ribulose bifosfato carboxilase oxigenase, conhecida como RuBisCO ou RudPase (CONTREIRAS, 1992, e BOUTTON, 1996) catalisa a reação de redução do CO_2 para 3-fosfoglicerato (3 átomos de carbono). As plantas de ciclo fotossintético C_3 apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ numa faixa de -32‰ a -22‰ , com média de -27‰ (VOGEL, 1993, e BOUTTON, 1996). A cevada, o arroz e o trigo usados na fabricação de cerveja são exemplos de plantas C_3 .

As plantas de ciclo fotossintético C_4 absorvem o CO_2 através dos estômatos por difusão, que passa às células do mesófilo, onde é fixado na forma de HCO_3^- , conhecido como ciclo fotossintético de Hatch – Slack. Este composto reage com fosfoenolpiruvato (PEP), cuja reação é catalisada pela fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcarboxilase), formando oxalacetato, que reduzirá a ácido aspártico ou ácido málico - ambos com 4 átomos de carbono (LEHNINGER, 1976, BOUTTON, 1996). A PEPcarboxilase discrimina menos $^{13}CO_2$, resultando em valores de $\delta^{13}C$ numa faixa de -17‰ a -9‰ , com média de -11‰ (VOGEL, 1993). O milho, a cana-de-açúcar e o sorgo são plantas do grupo C_4 (CONTREIRAS, 1992).

As vias metabólicas das plantas desses ciclos fotossintéticos apresentam valores de composição isotópica de carbono ($\delta^{13}C$) distintos entre si e que não se sobrepõem, possibilitando que esses valores sejam utilizados na determinação da fonte de carbono (VOGEL, 1993), diferindo também do valor apresentado pelo CO_2 atmosférico, que é de $-7,5\text{‰}$ (BOUTTON, 1996). O sinal negativo indica que a amostra apresenta composição isotópica mais leve que o padrão (DUCATTI, 2000). Como exemplo prático, pode-se distinguir o açúcar de cana – C_4 – do açúcar de beterraba – C_3 (COLL et al., 1980).

2.3.2. Isótopos de nitrogênio

É vital a participação do nitrogênio no metabolismo das plantas. Ele está presente em aminoácidos, proteínas, enzimas, etc. As plantas apresentam rotas metabólicas distintas quanto ao aproveitamento das fontes de nitrogênio, disponível para absorção pelas plantas, nas formas de amônio e de nitrato. A incorporação do elemento à planta se dá por diferentes processos, que variam de acordo com a espécie, cultivar, presença de microrganismos fixadores de nitrogênio, ambiente e forma de nutriente (HAYNES, 1986). O armazenamento de proteínas ou fontes nitrogenadas é realizado em diferentes níveis durante o desenvolvimento celular e regulado geneticamente (MORTON et al., 1995).

A proporção dos isótopos estáveis de nitrogênio ($^{15}N/^{14}N$) ocorre naturalmente a uma taxa de 1:272 (WAREMBOURG, 1993). Não há evidência de grandes variações nas taxas de $^{15}N/^{14}N$ nos reservatórios naturais de nitrogênio: ar, solo e água (BLACKBURN e KNOWLES, 1993).

Diferenças na abundância natural de ^{15}N têm sido usadas para estimar a contribuição relativa de duas fontes para um produto comum (SHEARER e KOHL, 1993). Portanto, o isótopo de nitrogênio torna-se um elemento importante na análise de produtos oriundos de duas matérias-primas com o mesmo ciclo fotossintético. Plantas com ciclo fotossintético C_3 (arroz e soja) podem ser separadas, pois a razão isotópica do nitrogênio da soja é semelhante a do ar atmosférico, enquanto que a razão isotópica do arroz fica próxima a do nitrogênio presente no solo (MULVANEY, 1993).

A utilização do enriquecimento relativo ($\delta^{15}\text{N}$) tem aplicações limitadas em estudos de autenticidade de alimentos, haja vista que valores de $\delta^{15}\text{N}$ refletem o uso de fertilizantes sintéticos (KELLY, 2003). Para o autor, vegetais que assimilam nitrato, expostos a fertilizantes artificiais, podem possuir baixos valores relativos de $\delta^{15}\text{N}$ em relação aos vegetais orgânicos ou não-tratados. Entretanto, adubos nitrogenados utilizados na agricultura possuem valores de enriquecimento relativo para N_2 próximo a 0 ‰. Isto se deve por que a fonte de nitrogênio utilizada para a fabricação de adubos é o nitrogênio atmosférico. Portanto, solos cultivados e adubados possuem valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 5 e 10 ‰, em função das transformações que o elemento sofre no ambiente (YONEYAMA, 1996 e YONEYAMA et al., 2001).

2.3.3. Fracionamento isotópico

Fator de fracionamento isotópico pode ser interpretado como a variação das concentrações das várias espécies isotópicas participantes em diferentes regiões de um sistema sujeito a um determinado processo físico ou químico. O fracionamento isotópico ocorre em todo processo de síntese de carboidrato na planta, de fermentação alcoólica, etc (DUCATTI, 2002).

Apenas 1,1 % dos átomos de carbono encontrados na natureza, são do isótopo ^{13}C . Processos físicos, químicos e enzimáticos associados à fotossíntese contribuem para o fracionamento isotópico de carbono nas plantas, dentre os quais: a solubilidade do CO_2 em água, hidratação do CO_2 , difusão de CO_2 no ar, difusão de CO_2 em solução aquosa, hidratação espontânea do CO_2 , hidratação do CO_2 catalizado pela anidrase carbônica, carboxilação da PEPcarboxilase ou da RuBisCO (O'LEARY, 1993).

Fatores ambientais (irradiação, déficit da pressão de vapor, umidade do solo, salinidade do solo, poluição do ar, altitude, concentração do CO₂ atmosférico) e biológicos (capacidade fotossintética, variação genética, competição, forma de crescimento, estado de desenvolvimento, tempo de cultivo) tem potencial para influenciar a composição isotópica de carbono nas plantas C₃ e C₄ (BOUTTON, 1996).

Fracionamento isotópico por processos ambientais e condições de concentração provavelmente ocorrem durante o crescimento normal da planta. O fracionamento isotópico devido a RuBisCO é independente da concentração de CO₂ *in vitro*, independente da temperatura e pouco dependente do pH (O'LEARY, 1993).

Os modelos de fracionamento isotópico e a composição isotópica do carbono estável para plantas C₃ (equação 3) foram propostos por Farquhar et al. (1982) e citados por Boutton (1996). Farquhar (1983) e Farquhar et. al. (1989) mencionaram o mesmo tipo de tratamento para caracterizar o fracionamento em plantas C₄ (equação 4).

$$F = a + (b - a) * (p_i / p_a) - d \quad (3)$$

$$F = a + (b_4 + b_3\phi - a) * (p_i / p_a) \quad (4)$$

Sendo: F = fracionamento,

a = discriminação devido a difusão (4,4 ‰),

b = discriminação devido a carboxilação (30 ‰ quando corrigido para o efeito equilíbrio na dissolução de CO₂),

p_i = pressão interna de CO₂ na fase gasosa,

p_a = pressão externa de CO₂,

d = termo que envolve contribuições da respiração, difusão da fase líquida, mudança isotópica devido ao carbono exportado, CO₂ fixado em plantas C₃ pela PEP carboxilase e uma variedade de outros fatores.

b_4 = fracionamento a partir de CO₂ gasoso através da PEP carboxilase (-5,7 ‰),

b_3 = fracionamento devido a RuBisCO (30 ‰),

ϕ = fração de CO₂ liberada na bainha do feixe permite escapar para o mesófilo, onde pode ser capturado pela PEP carboxilase ou liberado para a atmosfera.

Schmidt et al. (1980) citam que Winkler et. al. (s.d.) encontraram valores de $\delta^{13}\text{C}$ da ordem de 2 a 3 ‰ mais positivo para cereais americanos (misturas de trigo e milho) em relação ao europeu. Os autores afirmam ser necessária a análise dos valores isotópicos na matéria-prima das regiões produtoras.

Com relação ao isótopo de nitrogênio, ocorre fracionamento isotópico deste elemento durante os processos de desnitrificação, fixação de nitrogênio e mineralização de N-orgânico (BLACKBURN e KNOWLES, 1993).

2.3.4. Diluição isotópica

O princípio da diluição isotópica é baseado na suposição de que duas fontes que diferem em sua composição isotópica, quando uniformemente misturadas, resultam numa composição que reflete as quantidades relativas dessas fontes (WAREMBOURG, 1993).

Quando houver somente duas fontes isotopicamente diferentes (exemplo: malte e milho ou malte e açúcar de cana, na elaboração da cerveja comercial), utiliza-se os isótopos estáveis de um único elemento químico. A mensuração quantitativa pode ser obtida pela equação 5, cujo valor de $\delta^{13}\text{C}$ do produto reflete a proporção de ^{13}C de cada fonte (DUCATTI, 2000). Semelhante consideração é válida para o $\delta^{15}\text{N}$.

$$[\delta a * (A)] + [\delta b * (B)] = \delta P \quad (5)$$

Sendo: δa e δb = enriquecimento relativo ($\delta^{13}\text{C}$) das fontes de carbono,

δP = enriquecimento relativo ($\delta^{13}\text{C}$) do produto formado,

A e B = proporções relativas das fontes (matérias-primas), para as quais $A + B = 1$.

2.4. Aplicações de isótopos estáveis em bebidas

Nos últimos anos, as determinações das razões de isótopos estáveis de carbono, hidrogênio e oxigênio foram aplicados para elucidar vias bioquímicas e mecanismos de reações, além de elevar a importância no controle de autenticidade e origem de substâncias

específicas, ingredientes ou o produto alimentício processado (ROSSMANN, 2001). A aplicabilidade desse método é uma ferramenta importante na determinação de adulteração e controle de qualidade de alimentos e bebidas.

O método de isótopos estáveis é reconhecido oficialmente por instituições como a *European Commission for Normalization (ECN)* e *Association of Official Analytical Chemists (AOAC)*, como um procedimento com fundo científico para variações das razões isotópicas em substâncias naturais. Pelo fato de ser um método padronizado, podem-se conseguir valores de reprodutibilidade e repetibilidade inferiores a 1 ‰. (ROSSMAN, 2001).

O método de isótopos estáveis permite verificar a origem geográfica de sucos de frutas, vinhos, destilados e cervejas (ROSSMAN, 2001), e a autenticidade dessas bebidas (SUHAJ e KOVAC, 1999). Valores de isótopos estáveis na matéria-prima são muito semelhantes aos respectivos valores do produto industrializado, sendo possível detectar adulteração fraudulenta de méis, xaropes, vinagres, etanol, destilados, cervejas, conhaques, óleos, compostos aromáticos, aditivos entre outros (WINKLER e SCHMIDT, 1980).

A adição de açúcar líquido em sucos de frutas concentrados é uma adulteração que reduz o custo do produto, causando desvantagens para os produtores honestos; porém, normalmente não afeta a saúde do consumidor (ROSSMANN, 2001).

Schmidt et al. (1980) analisaram matérias-primas (cevada, malte, arroz e trigo) e cervejas procedentes de diversos países, e verificaram que algumas delas não contêm adjuntos, enquanto outras apresentaram milho (C_4) ou arroz (C_3) em sua composição. Como os autores usaram apenas o isótopo de carbono, não puderam afirmar se havia presença do arroz nas cervejas analisadas; ou seja, quando eles fizeram referência à presença dessa matéria-prima, citaram-na de forma duvidosa: “arroz?”. Os autores também afirmaram que a cerveja descarbonatada possui valor de $\delta^{13}C$ aproximadamente 1,5 ‰ maior que a cerveja inalterada.

Stern e Fogel (1997) recolheram e analisaram o CO_2 resultante de cerveja fabricada com extrato de malte desidratado (C_3) e açúcar de milho (C_4), e afirmaram que a levedura metaboliza os açúcares do milho mais rapidamente que os açúcares provenientes do extrato de malte.

Oliveira et al. (2002) analisaram amostras de café, vinho, vodka e cerveja e compararam o $\delta^{13}C$ com o preço destas bebidas. Os autores utilizaram os isótopos estáveis do carbono para identificar a porcentagem de plantas de ciclo C_3 e C_4 dessas bebidas.

Brooks et. al. (2002) analisaram matérias-primas e cervejas de diversos países. Eles afirmaram que a análise do $\delta^{13}\text{C}$ permite uma detecção acurada de carbono de plantas C_4 em cervejas, porém não podem detectar todos os adjuntos, como por exemplo, o arroz. Para a verificação do $\delta^{13}\text{C}$ da bebida, eles desidrataram-na a 60°C , e submeteram a fração de sólidos solúveis (não volátil) à análise. Os autores também afirmaram que as massas de carbono originárias de lúpulo e de fermento utilizados no processo de fabricação de cerveja são muito menores que as massas de carbono de malte e adjuntos presentes no mosto. Em seu experimento, eles removeram o lúpulo do processo e separaram a levedura, haja vista que o valor de $\delta^{13}\text{C}$ do lúpulo e da levedura não apresentam importância quantitativa quando comparados ao malte.

Correia et. al. (2005) mostraram a possibilidade de se produzir cerveja a partir de malte de milho. Eles compararam esta bebida com marcas comerciais de cervejas, e embora tivessem obtido valores sensoriais inferiores, concluíram que houve boa aceitação.

O CIE utiliza-se da diferença isotópica na origem botânica do álcool (plantas C_3 *versus* plantas C_4) na identificação da adulteração de vinhos e fermentados nacionais. Essa metodologia foi adotada pelo MAPA para mensurar fraude em vinhos, vinagres de vinho, fermentados de maçã, fermentados de laranja, fermentados de cana e outros; também auxilia no controle de qualidade das matérias-primas e produtos das indústrias de vinagres e viti-vinícolas nacionais. O CIE é uma instituição credenciada pelo MAPA para proceder análises isotópicas e emitir laudos oficiais nos produtos citados (BRASIL, 2000).

O Instituto Brasileiro do Vinho, no estado do Rio Grande do Sul, recentemente, passou a utilizar a mesma metodologia dos isótopos estáveis ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) para misturas de vinhos e derivados de uva (informação verbal)⁵.

A determinação da razão de isotópica de carbono e nitrogênio foi realizada em matérias-primas utilizadas no processo de fabricação cervejeira (SLEIMAN et. al., 2004), e demonstrou ser possível a diferenciação de matérias-primas de mesmo ciclo fotossintético (cevada e arroz, ambas C_3).

⁵ Informação fornecida pelo Prof. Dr. Carlos Ducatti, no CIE, em setembro de 2005.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A produção dos padrões de referência e a caracterização físico-química das cervejas comerciais foram realizadas no Laboratório de Bebidas do Departamento de Gestão e Tecnologia da Faculdade de Ciências Agronômicas, e as análises da composição isotópica das bebidas, no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais em Ciências da Vida do Instituto de Biociências, ambos pertencentes à UNESP, Campus de Botucatu.

3.1. Matérias-primas

As cevadas e os maltes usados neste trabalho são da safra de 2002 e procedentes do Brasil, Argentina e França (Tabela 8). Foram fornecidos pelas duas únicas maltarias presentes no território nacional que não pertencem aos grupos fabricantes de cervejas. Também foi utilizado extrato de malte na forma de pó (EMP), xarope de maltose de milho (HMCS) e maltose de milho na forma de pó (HMCP) dos principais fornecedores destes produtos para a indústria cervejeira. Materiais como o *grits* de milho, oriundo de regiões produtoras do Paraná e Goiás, a quirera de arroz, provenientes do Mato Grosso, Rio Grande do Sul, São Paulo e Argentina, e o açúcar de cana (três marcas de açúcar cristal, um açúcar

líquido e um invertido) foram obtidos junto a duas cervejarias e empresas produtoras dessas matérias-primas. Estes materiais foram utilizado para a caracterização isotópica das matérias-primas utilizadas na elaboração de cervejas Pilsen. Também foram submetidos à análise dois lúpulos *pelletizados*, sendo um com características de amargor e outro de aroma (Tabela 8).

Tabela 8 – Origem das matérias-primas.

Matéria-prima	Código	Origem geográfica
Cevada	Bbr	Brasil
	Bar	Argentina
	Bay	Argentina
	Bfr	França
Malte	Mbr	Brasil
	Mar	Argentina
	May	Argentina
	Mfr	França
	Ma0	Argentina
	Mb0	Brasil
	Mb1	Brasil
	Mb2	Brasil
	Mb3	Brasil
	Mb4	Brasil
	Mb5	Brasil
EMP	EMP	-
<i>Grits</i>	Cnpr	Norte do PR – Brasil
	Cspr	Sul do PR – Brasil
	Cgo	GO – Brasil
HMCS	Csm	-
HMCP	Cpo	-
Açúcar cristal	Sc1	SP – Brasil
	Sc2	SP – Brasil
	Sc3	SP – Brasil
Açúcar invertido	Siv	SP – Brasil
Açúcar líquido	S1q	SP – Brasil
Arroz	Rsp	SP – Brasil
	Rmt	MT – Brasil
	Rrs	RS – Brasil
	Rar	Argentina
Lúpulo aromático	Har	-
Lúpulo amargor	Ham	-

3.2. Produção de padrões de referência

Foram produzidos mostos de malte, de *grits*, de HMCS, de açúcar de cana e de quirera de arroz. Levedura cervejeira centrifugada (1.413 G) de baixa fermentação da espécie *Saccharomyces cerevisiae* (SLEIMAN, 2002) foi adicionada a estes mostos, considerados puros (100% malte, 100% *grits*, 100% HMCS, 100% açúcar e 100% arroz), dando origem a fermentados puros, que passaram a ser considerados padrões de referência.

Também foram realizadas misturas destes mostos puros entre si, tomando-se o cuidado prévio de igualar suas densidades (quantidade de sólidos solúveis na mistura). Estas misturas foram feitas com base na massa de cada mosto, a fim de produzir fermentados com diferentes percentuais de malte e adjunto (Tabela 9) para a criação da “reta de calibração”. A fermentação alcoólica dos mostos puros e de suas misturas transcorreu à temperatura de 10°C.

Tabela 9 – Densidade dos mostos e percentual de malte utilizado para as misturas.

Mistura							
Malte	<i>Grits</i>	Malte	HMCS	Malte	Açúcar	Malte	Arroz
Densidade do mosto							
1,03483	1,03468	1,03542	1,03556	1,04784	1,04790	1,04671	1,04673
% de mosto na mistura							
100,0	0,0	-	-	-	-	100,0	0,0
-	-	90,0	10,0	-	-	90,0	10,0
-	-	70,0	30,0	70,0	30,0	-	-
60,0	40,0	-	-	60,0	-	60,0	-
55,0	45,0	55,0	45,0	-	-	55,0	45,0
52,0	48,0	52,0	48,0	-	-	-	-
51,0	49,0	51,0	49,0	-	-	-	-
50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
49,0	51,0	-	-	-	-	49,0	51,0
-	-	45,0	55,0	-	-	45,0	55,0
40,0	60,0	40,0	60,0	-	-	40,0	60,0
-	-	30,1	69,9	-	-	30,0	70,0
20,0	80,0	-	-	-	-	20,0	80,0
10,0	90,0	10,1	89,9	-	-	10,0	90,0
-	-	-	-	0,0	100,0	0,0	100,0

Foram realizados testes preliminares de mostos produzidos com lúpulo em proporções semelhantes aos de mostos cervejeiros, nos quais constatou-se que esta matéria-prima não interferiu no percentual participativo dos valores isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$), quando comparada a mostos produzidos sem sua utilização. Conseqüentemente, os padrões de referência não utilizaram lúpulo.

O mosto de malte foi produzido utilizando-se 50g de malte (Mbr) previamente moído e adicionado em 200g de água destilada à 40°C. A mistura permaneceu em repouso por 30 minutos e posteriormente elevou-se a temperatura à taxa aproximada de 1°C por minuto até atingir 70°C. Neste momento foi adicionado mais 100g de água destilada (também a 70°C) à mistura, a qual permaneceu em repouso por 60 minutos. Posteriormente, elevou-se a temperatura à 80°C e procedeu-se o resfriamento da mistura à temperatura ambiente, num intervalo de 15 minutos. Adicionou-se água destilada até que a massa total da mistura alcançasse 450g e então se procedeu a filtração em papel de filtro comum, para retirar o bagaço (adaptado de EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 1987). Em seguida, foi realizada a fervura do mosto, sendo que a cada 15 minutos, completava-se o volume inicial com água destilada, e ao final de 60 minutos obteve-se mosto com 12 °Brix. Nos testes preliminares que utilizaram lúpulo aromático ou de amargor, estes foram adicionados aos 30 minutos a partir do início da fervura.

Para a produção de mostos de arroz e de *grits* puros, buscou-se uma alternativa em que não se adicionasse qualquer outra fonte de carbono e nitrogênio. Para isso, houve a necessidade de realizar a hidrólise ácida dessas matérias-primas. Procedeu-se da seguinte forma: alíquotas dessas matérias-primas foram moídas; em seguida, foi adicionado ácido sulfúrico 0,4N na proporção de 1:2,5 (amostra:ácido) e submetidas a aquecimento de 120°C em autoclave durante 4 horas (adaptado de BANZON et al, 1948). Após o resfriamento, os mostos foram filtrados em papel de filtro comum para retirar o material sólido e, em seguida, utilizou-se solução de soda cáustica 1N a fim de elevar o pH da mistura até atingir pH de 5,1 - faixa de pH de mostos cervejeiros. O arroz utilizado foi o Rsp e o *grits* foi o Cgo.

Os mostos de HMCS e de açúcar (Sc3) de cana foram elaborados pela simples diluição destas matérias-primas em água (12°Brix). Esses mostos foram fermentados nas mesmas condições que o mosto de malte.

3.3. Análise dos isótopos estáveis de ^{13}C e ^{15}N

As matérias-primas utilizadas (Tabela 8) foram moídas em moinho criogênico, contendo nitrogênio líquido, durante três minutos, a fim de se obter um material homogêneo com uma granulometria semelhante a talco, para se proceder as análises.

Optou-se em analisar o fermentado (padrões de referência e cervejas comerciais) como um todo e não frações desses fermentados (fração volátil, fração de sólidos solúveis, destilado, etc.), que poderiam levar a fracionamento isotópico. Outro fator decisivo pela opção em se analisar o fermentado como um todo foi o fato de que as diferentes matérias-primas podem apresentar diferentes fermentabilidades, acarretando em resultados isotópicos que gerariam dúvidas quanto à aplicabilidade do método.

Os fermentados padrões e as cervejas comerciais foram descarbonatados (agitação), evitando-se, desta forma, possível mascaramento de resultados através de CO_2 adicionado de outros lotes de cervejas e/ou outras fontes, inclusive de origem petroquímica. Tomou-se uma alíquota de 1,1 μL da amostra, utilizando-se pipeta volumétrica e o material foi colocado em cápsulas de estanho contendo *chromosorb*. As cápsulas foram introduzidas em analisador elementar (EA 1108 – *CHN Fisons Elemental Analyzer*), onde sofreram combustão total a 1020°C , convertendo assim todo o carbono da amostra em CO_2 , que é direcionado ao espectrômetro de massa de razão isotópica (IRMS - *Delta S Finnigan Mat*) para a verificação dos valores de $\delta^{13}\text{C}$.

Para as análises dos valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$, as amostras foram desidratadas em estufa, à temperatura de 50°C , com circulação de ar, a fim de concentrar o nitrogênio. O CO_2 gerado foi retido com *carbosorb* e a água foi retida com perclorato de magnésio. O N_2 e óxidos de nitrogênio da amostra passam por uma coluna de Cu a 650°C , para a conversão completa em N_2 .

As matérias-primas, os fermentados padrões e as cervejas comerciais foram analisados em duplicata.

3.3.1. Expressão dos resultados

A fim de se obter melhor visualização das diferenças isotópicas ocorridas entre plantas de mesmo ciclo fotossintético, os resultados obtidos a partir das matérias-primas estão em gráfico onde o eixo X (abscissas) é a medida de $\delta^{15}\text{N}$ e o eixo Y (ordenadas) é a medida de $\delta^{13}\text{C}$.

Para as análises dos fermentados padrões de referência, os valores observados para $\delta^{13}\text{C}$ (Y_C) ou $\delta^{15}\text{N}$ (Y_N) são variáveis dependentes do percentual de malte de cada fermentado; ou seja, o valor observado (Y) de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ dos fermentados padrões é função do percentual de malte (X), conforme a equação 6.

$$Y = f(X) = a + b * X \quad (6)$$

Sendo: Y = valor observado de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ dos fermentados padrões, é função de X,

X = percentual de malte utilizado na elaboração do mosto,

a = coeficiente linear da reta,

b = coeficiente angular da reta.

Como se pretende encontrar um valor de percentual de malte dependente de um dado valor $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ independente, se propôs a análise de regressão linear invertida. Isso significa dizer que os valores observados de Y foram inseridos no eixo X e vice-versa (Figura 1). A fim de evitar confusão com as simbologias utilizadas, adotou-se a igualdade para os valores X e Y expressa na equação 7, a partir da inversão.

$$\begin{cases} Y = W \\ X = Z \end{cases} \quad (7)$$

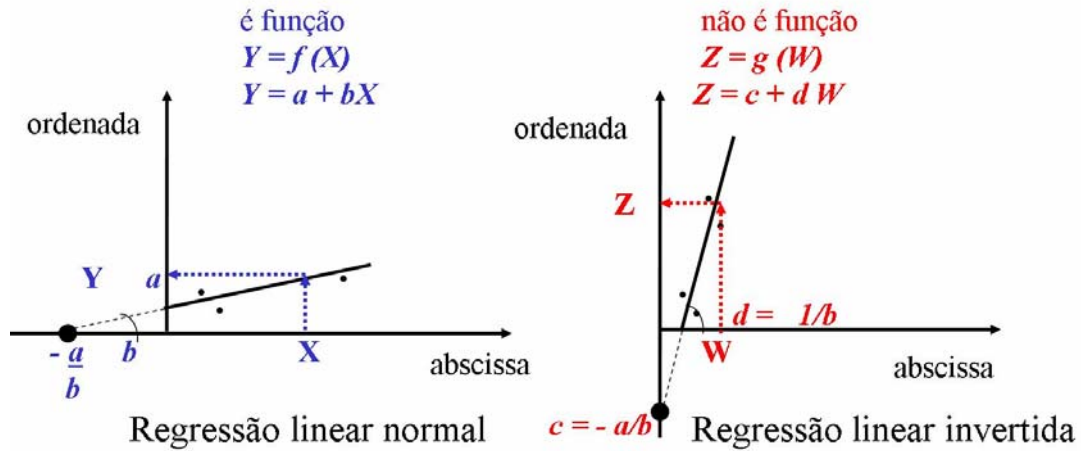


Figura 1: Exemplo teórico de gráfico de regressão linear invertida.

Pode-se dizer que a partir dos valores observados X e Y , obtiveram-se equações com valores Z e W , conforme a equação 8 e suas variações. Por analogia à equação 6, obtém-se uma relação matemática (equação 8); porém, devido à inversão, esta não expressa que Z é função de W . Isso quer dizer que a variável Z (percentual de malte conhecido pelo fabricante) é uma variável supostamente controlada e não sofre influência da variável W .

$$Z = g(W) \quad (8)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} Z_{grits} = g(W_{grits}) \end{array} \right. \quad (8a)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} Z_{HMCS} = g(W_{HMCS}) \end{array} \right. \quad (8b)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} Z_{açúcar} = g(W_{açúcar}) \end{array} \right. \quad (8c)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} Z_{arroz} = g(W_{arroz}) \end{array} \right. \quad (8d)$$

A partir da regressão linear invertida obtém-se a equação da reta ($h_{adjunto}$ sabendo que adjunto pode ser *grits*, HMCS, açúcar, arroz, etc.). que melhor representa a referida amostra observada. Pretende-se que este modelo de comportamento, baseado numa amostra com n observações, represente a população de cervejas nacionais.

Embora a inversão resulte em retas com os coeficientes c e d , diferentes dos coeficientes a e b da regressão linear normal, elas apresentam valores estatísticos de F e R^2 iguais entre si. Assim, é possível a utilização da equação 9 para calcular o percentual mais provável (PMP) de participação do malte nas amostras de cerveja, com grande precisão, haja vista que foi calculado o intervalo de confiança - IC (equação 10) ao nível de 90% (HOFFMAN e VIEIRA, 1998) para as retas $h_{adjunto}$. A adoção do intervalo de confiança para o modelo eleva a garantia da previsão de futuros resultados encontrados na população.

$$h_{adjunto} = Z = c + d * W \quad (9)$$

Sendo: $h_{adjunto}$ = porcentagem mais provável (PMP) de malte na amostra de malte e adjunto, sabendo-se que adjunto pode ser *grits*, HMCS, açúcar ou arroz.

c = coeficiente linear da reta,

d = coeficiente angular da reta,

W = valor de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$, para o qual se deseja obter o PMP de malte ($h_{adjunto}$).

$$IC(Y) = h_{adjunto} \pm t_{(n-2)} * s_e * \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(W' - W_m)^2}{\sum (W - W_m)^2}} \quad (10)$$

Sendo: $IC(Y)$ = intervalo de confiança para o eixo Y,

$h_{adjunto}$ = porcentagem mais provável (PMP) de malte na amostra de malte e adjunto,

$t_{(n-2)}$ = valores críticos, encontrados na tabela de Distribuição de Student, tais que

$$P(-tc < t < tc) = 1 - p,$$

s_e = raiz quadrada do quadrado médio do resíduo,

n = número de observações,

W' = valor de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$, para o qual se deseja obter o PMP de malte ($h_{adjunto}$),

W_m = valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ das n observações,

W = valor observado de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$ da amostra analisada.

A reta e o intervalo de confiança podem gerar resultados matemáticos superiores a 100% e inferiores a 0%, cujos valores não devem ser considerados. As retas $h_{adjunto}$ foram adotadas como padrões para as análises com cervejas comerciais, pois se demonstraram capazes de representar futuras análises.

Segundo Bussab (1999), podem ocorrer pontos discrepantes na reta observada, que podem ser corrigidos ou removidos do conjunto básico de dados sem prejuízo para o modelo. Para o autor, há uma razão para a inadequação da observação, o que justificaria sua eliminação.

3.4. Cervejas comerciais tipo Pilsen

No final do ano de 2004, o MAPA tomou conhecimento do projeto e se propôs a realizar colheitas fiscais de cervejas no território nacional e encaminhá-las ao CIE para análise isotópica. O MAPA aconselhou a não divulgação pública das marcas recolhidas, pois colheita fiscal possui caráter sigiloso. O decreto nº 2.314 define análise fiscal como o procedimento laboratorial para identificar ocorrências de alterações, adulterações, falsificações e fraudes desde a produção até a comercialização da bebida.

Dezenove estados fabricam cerveja no Brasil. A colheita fiscal ocorreu em dezessete deles, representando as cinco regiões geográficas da Federação (Tabela 10). Foram analisadas 161 amostras de cervejas, de 60 marcas, procedentes de 63 fábricas, localizadas em 56 cidades do país.

Tabela 10 – Distribuição das cervejas coletadas pelo MAPA, por Região.

Região	Estados que fabricam cerveja no Brasil	Estados que enviaram amostras	Amostras de cerveja analisadas
Sul	3	3	40
Sudeste	3	3	72
Centro-Oeste / DF	3	3	17
Nordeste	8	7	30
Norte	2	1	02
Total	19	17	161

3.4.1. Caracterização físico-químicas das cervejas

As análises físico-químicas realizadas nas cervejas comerciais foram: extrato aparente, extrato real, álcool, pH, cor e amargor segundo European Brewery Convention (1987) e acidez total conforme American Society of Brewing Chemists (1958).

3.4.2. Análise visual do rótulo

Foi feito um exame visual nos rótulos exibidos nas embalagens das cervejas comerciais, para verificar a presença das seguintes informações: nome do fabricante, endereço do estabelecimento de industrialização, número do registro do produto no MAPA, ingredientes, a expressão "Indústria Brasileira", frase de advertência, conteúdo, graduação alcoólica, prazo de validade e identificação do lote (BRASIL, 1997).

3.5. Estudo de correlação entre percentual de malte e preço da cerveja

Foi realizado um levantamento semanal de preços das cervejas, praticados no varejo, durante o período de dois meses, em quatro grandes redes de supermercados. Estes estabelecimentos foram escolhidos por representarem bem o comércio varejista do maior mercado consumidor de cerveja - a cidade de São Paulo. Foi arbitrado o número de quatro estabelecimentos, pois numa semana poderia haver uma determinada cerveja em um deles e / ou faltar em outro. O período de dois meses (oito coletas de preços) foi estipulado para evitar mascaramento de resultados através do fator “promoção”, haja vista que a cerveja é um produto que apresenta grande circulação e considerado atrativo por essas redes varejistas. Utilizou-se o valor médio obtido a partir dos valores semanais para cada marca diferenciando-se dois tipos de embalagens (latas e garrafas *long neck*).

Tomou-se o cuidado de se verificar a unidade industrial que produziu cada marca dessas cervejas comercializadas em São Paulo, a fim de se verificar a possível correlação existente entre os preços destas cervejas com a quantidade de malte utilizada para cada uma delas, calculada a partir dos valores isotópicos das cervejas coletadas nestas mesmas cidades (unidades fabris). A correlação foi verificada ao nível de 90 % de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise isotópica das matérias-primas

Os resultados das análises isotópicas das cevadas, maltes, *grits* e derivados de milho, arroz, lúpulos e açúcares, encontram-se nas Tabelas 11 a 16.

Tabela 11 – $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de cevadas.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio	Média	Desvio Médio
Bbr	-28,82	0,04	3,25	0,04
Bar	-28,37	0,03	3,27	0,10
Bay	-27,23	0,06	3,39	0,01
Bfr	-27,98	0,01	3,63	0,06
Média	$-28,10 \pm 0,67$		$3,39 \pm 0,17$	

Observando-se o sinal isotópico médio das diferentes cevadas (Tabela 11), percebe-se que o valor médio de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras variou entre $-27,23$ e $-28,82$ ‰, com média de $-28,10$ ‰. Nota-se, também, que o desvio padrão entre as amostras é de apenas $0,67$ ‰ e de $0,17$ ‰ para $\delta^{15}\text{N}$. Schmidt et. al. (1980) encontraram valores de $\delta^{13}\text{C}$ iguais a $-25,6 \pm 0,3$ ‰ para amostras de cevada.

Os quatro primeiros maltes apresentados na Tabela 12 são materiais provenientes das cevadas da Tabela 11. As médias destes maltes apresentam valores muito próximos às médias das cevadas, exceção ocorrida para o valor de $\delta^{15}\text{N}$ igual a $1,90$ ‰ para o malte Mbr. Essa proximidade de resultados sugere que não há fracionamento dos isótopos de ^{13}C e ^{15}N durante o processo de maltagem da cevada.

Tabela 12 – $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de malte e extrato de malte.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio	Média	Desvio Médio
Mbr*	-27,28	0,15	1,90	0,01
Mar*	-27,87	0,17	3,27	0,05
May*	-28,55	0,03	4,03	0,02
Mfr*	-27,35	0,04	2,85	0,07
Média *	$-27,76 \pm 0,59$		$3,01 \pm 0,89$	
Ma0	-28,25	0,06	4,86	0,01
Mb0	-27,81	0,14	4,27	0,02
Mb1	-27,64	0,00	4,51	0,09
Mb2	-28,24	0,00	4,29	0,02
Mb3	-28,06	0,00	4,46	0,04
Mb4	-27,77	0,00	4,67	0,00
Mb5	-28,16	0,01	4,54	0,02
Média Total	$-27,91 \pm 0,39$		$3,97 \pm 0,91$	
EMP	-26,31	0,04	3,29	0,01

Média* = média das 4 primeiras amostras, provenientes das cevadas mostradas na Tabela 11.

Schmidt et. al. (1980), de forma semelhante, encontraram valores de malte ($\delta^{13}\text{C} = -25,4 \pm 0,3 \text{ ‰}$) e cevada ($\delta^{13}\text{C} = -25,6 \pm 0,3 \text{ ‰}$) próximos entre si.

O $\delta^{13}\text{C}$ dos maltes (Tabela 12) variou de $-27,28$ a $-28,55 \text{ ‰}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de $1,90$ a $4,86 \text{ ‰}$. A amostra Mbr obteve o valor mais leve dentre os valores de $\delta^{15}\text{N}$ e o mais pesado dentre as amostras de $\delta^{13}\text{C}$. Os valores mais leves de $\delta^{13}\text{C}$ foram obtidos pela amostra May e a Ma0 obteve o valor mais pesado dentre as amostras de $\delta^{15}\text{N}$. Brooks et. al. (2002) encontraram valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre $-24,2$ e $-26,8 \text{ ‰}$, com média de $-25,9 \pm 0,7 \text{ ‰}$ para onze amostras de malte. Em ambos os casos, os valores encontrados representam plantas de ciclo fotossintético C3.

O extrato de malte (EMP), também na Tabela 12, apresentou valor mais pesado ($\delta^{13}\text{C} = -26,31 \text{ ‰}$) que o malte Mbr, porém não é possível afirmar se no processo de fabricação de EMP ocorre fracionamento isotópico, pois não foi analisada a cevada referente à esse material. Porém este valor está dentro da faixa encontrada por Brooks et. al. (2002) para as amostras de malte. Com relação ao $\delta^{15}\text{N}$, seu valor apresenta-se próximo ao valor médio encontrado para os maltes.

Ainda, observa-se que a média dos quatro primeiros materiais é muito próxima à média de todo o conjunto amostrado, para análises de $\delta^{13}\text{C}$. Porém, para as análises de $\delta^{15}\text{N}$, houve um acréscimo de quase 1 ‰ à média de todo o conjunto, mantendo-se o desvio padrão.

As amostras de derivados de milho (Tabela 13) apresentaram valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ iguais a $-11,60 \text{ ‰}$, característico de plantas C₄. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Carro et. al. (1980), que apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ compreendidos entre $-10,40$ e $-12,40 \text{ ‰}$, enquanto que Brooks et. al. (2002) encontraram valor de -13 ‰ para açúcares de milho. O valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ foi de $4,49 \pm 1,10 \text{ ‰}$, para os derivados de milho; entretanto, o HMCS (Csm) não apresentou nitrogênio.

Tabela 13 – $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de derivados de milho.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio	Média	Desvio Médio
Cnpr	-12,02	0,00	6,11	0,09
Cspr	-11,29	0,15	4,15	0,00
Cgo	-11,93	0,11	4,06	0,02
Csm	-11,39	0,11	-	-
Cpo	-11,35	0,06	3,64	0,42
Média	$-11,60 \pm 0,35$		$4,49 \pm 1,10$	

As amostras de arroz (Tabela 14) resultaram em valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ iguais a $-28,87 \pm 0,42$ ‰, enquanto que Schmidt et. al. (1980) encontraram $-26,0$ ‰. Porém, neste trabalho, assim como em Schmidt et. al. (1980), foram observados que os valores para arroz são mais leves que os resultados encontrados para malte. Mesmo assim, é impossível diferenciar estas matérias-primas através da análise de carbono, haja vista se tratar de duas plantas de ciclo fotossintético C_3 .

Mesmo com os valores médios do nitrogênio apresentando desvio padrão maior que os de carbono para as amostras de malte, derivados de milho e arroz (Tabelas 12 a 14), os resultados encontrados para nitrogênio (Tabela 14) evidenciaram a possibilidade de separação entre arroz e malte (plantas de ciclo C_3), pois o valor médio de $\delta^{15}\text{N}$ entre as amostras de arroz foi de $9,23 \pm 0,72$ ‰, enquanto que para malte foi de $3,97 \pm 0,91$ ‰ (Tabela 12).

Tabela 14 – $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de arroz.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio	Média	Desvio Médio
Rsp	-29,12	0,17	9,88	0,01
Rmt	-28,37	0,06	8,20	0,06
Rrs	-29,29	0,11	9,52	0,12
Rar	-28,70	0,04	9,30	0,05
Média	$-28,87 \pm 0,42$		$9,23 \pm 0,72$	

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ para os lúpulos (Tabela 15) variaram de $-26,30$ a $-26,91$ ‰, com média de $-26,61$ ‰, enquanto que os resultados encontrados por Brooks et. al. (2002) variaram na faixa de $-23,6$ a $-27,5$ ‰, com média de $-24,9 \pm 1,4$ ‰ dentre seis diferentes lúpulos analisados. Estes autores removeram o lúpulo para a produção de mostos padrões, assim como neste trabalho.

Tabela 15 – $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas amostras de lúpulos.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio	Média	Desvio Médio
Har	-26,91	0,19	7,17	0,00
Ham	-26,30	0,11	4,30	0,00
Média	$-26,61 \pm 0,43$		$5,74 \pm 2,03$	

Apesar do açúcar de cana não apresentar nitrogênio (Tabela 16), seu sinal isotópico de carbono é muito próximo ao do milho (ambos originários de plantas de ciclo fotossintético C_4), tornando difícil a diferenciação destas matérias-primas entre si, caso ocorram juntas na formulação das cervejas. Foram encontrados valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre $-12,93$ e $-13,57$ ‰, com média de $-13,14 \pm 0,26$ ‰ para as amostras de açúcar analisadas. Estes resultados são mais leves que -12 ‰ encontrado por Brooks et. al. (2002), enquanto que Winkler e Schmidt (1980) encontraram valor médio de $-11,4 \pm 0,7$ ‰ para sacarose de cana

em oito amostras analisadas. Outros autores citados por Winkler e Schmidt (1980) publicaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ de $-10,3$ a $-12,2$ ‰.

Tabela 16 – $\delta^{13}\text{C}$ nas amostras de açúcar de cana.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio
Slq	-12,93	0,11
Sc1	-13,08	0,06
Sc2	-13,18	0,04
Sc3	-12,93	0,11
Siv	-13,57	0,13
Média	$-13,14 \pm 0,26$	

Por outro lado, é evidente a diferenciação de malte e milho, e malte e cana, através da análise do isótopo de ^{13}C (Figura 2). Da mesma forma, é possível a diferenciação entre malte e arroz (ambos originários de plantas de ciclo fotossintético C_3) através da análise do ^{15}N . A fim de obter melhor visualização das diferenças isotópicas ocorridas entre plantas de mesmo ciclo fotossintético, estas foram reunidas em áreas representativas das matérias-primas, de forma esquemática (Figura 2).

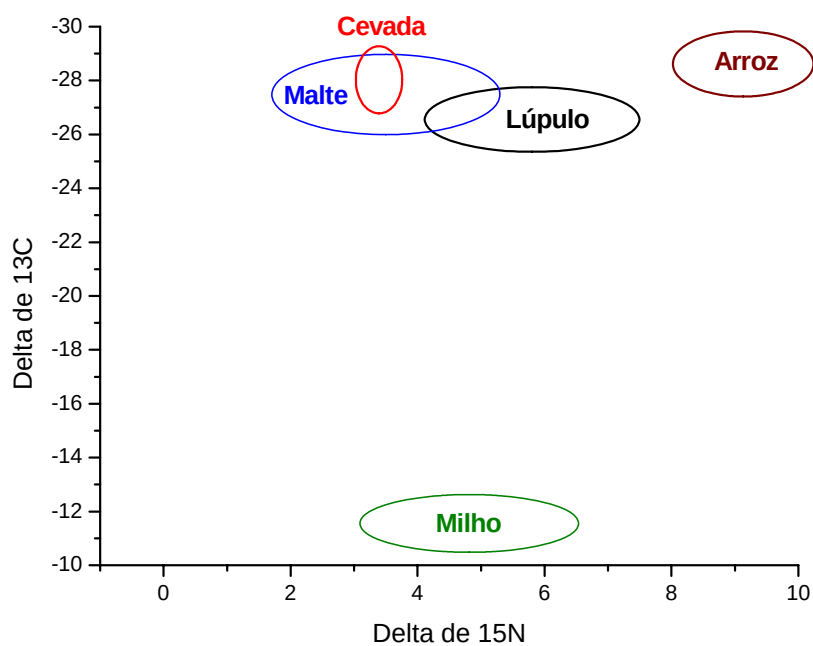


Figura 2 – $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ nas matérias-primas utilizadas na fabricação de cervejas.

Como o açúcar de cana não apresentou nitrogênio, seus sinais isotópicos podem ser visualizados na Figura 3.

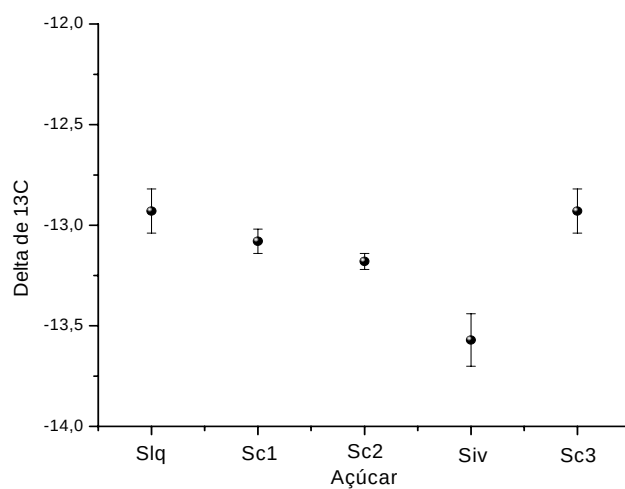


Figura 3 – $\delta^{13}\text{C}$ nas amostras de açúcar de cana.

4.2. Análise isotópica dos fermentados padrões e suas misturas

4.2.1. Carbono-13

Conhecendo-se o percentual de malte (Z_{grits}) dos fermentados padrões de referência elaborados com malte e *grits*, foram observados os valores (W_{grits}) de $\delta^{13}C$ (Tabela 17), os quais serviram para a realização da análise de regressão linear invertida, apresentada na Tabela 18.

Com os resultados apresentados na Tabela 18, obteve-se a reta de calibração (h_{grits} - equação 11) para cervejas que utilizam malte e *grits*, a partir da qual foi calculado o intervalo do PMP de malte utilizado inicialmente nas misturas que utilizaram estas matérias-primas (Tabela 11). Através da equação 10 foi calculado o intervalo de confiança para a reta h_{grits} em cada mistura.

Tabela 17: Percentual de malte (Z_{grits}) das misturas de malte e *grits*, valores de $\delta^{13}C$ observados (W_{grits}) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração (h_{grits}) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.

Z_{grits} (% malte)	W_{grits} ($\delta^{13}C$)	intervalo de PMP de malte para a reta h_{grits} (% malte)	
100,0	-25,76	98,1	105,4
60,0	-21,15	55,1	61,0
55,0	-20,80	51,8	57,7
52,0	-20,46	48,6	54,5
51,0	-20,33	47,3	53,2
50,0	-20,26	46,7	52,6
49,0	-20,13	45,4	51,4
40,0	-19,38	38,3	44,3
20,0	-17,01	15,7	22,0
10,0	-16,36	9,4	15,9

Verifica-se na Tabela 17 que os valores iniciais Z_{grits} encontram-se sempre dentro do intervalo de PMP de malte calculado.

Tabela 18: Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores Z_{grits} e W_{grits}

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,99824
R-Quadrado	0,996483
R-quadrado ajustado	0,996044
Erro padrão	1,51391
Observações	10

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	5195,393	5195,4	2266,825	4,1883E-11
Resíduo	8	18,3354	2,2919		
Total	9	5213,729			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>Inferior 90,0%</i>	<i>Superior 90,0%</i>
Interseção	-142,392	4,042051	-35,228	4,61E-10	-149,908256	-134,875478
Variável X 1	-9,47784	0,199068	-47,611	4,19E-11	-9,848018414	-9,107666987

$$h_{grits} (\%malte) = -142,392 - 9,47784 * W' \quad (11)$$

Através dessa reta de calibração (equação 11), é possível obter quaisquer valores para h_{grits} e seu intervalo de confiança (Figura 4), a partir de um dado valor W_{grits} observado. O intervalo de confiança, gerado a partir da reta de calibração, compreende uma faixa de valores que é ligeiramente mais larga nas extremidades da reta que nos pontos intermediários, onde devido ao estreitamento, apresenta maior precisão. É justamente nesses pontos intermediários que estão os limites no uso de malte, estipulados pela legislação.

O ponto observado (W_{grits}) para 100% de malte foi igual a -25,76 ‰; ou seja, 1,52 ‰ mais pesado em ^{13}C que seu referido malte ($Mbr = -27,28 \text{ ‰}$).

A partir da equação 11, também foi encontrada a faixa considerada duvidosa ou faixa de incerteza ($\delta^{13}\text{C} = -19,99$ a $-20,61 \text{ ‰}$) quanto ao PMP de malte na cerveja, pois o limite inferior do intervalo de confiança reflete valores menores que 50 % (menor percentual considerado legal para cervejas do tipo Pilsen, pelo Decreto nº 2.314). Entretanto, cervejas que geram valores iguais ou mais pesados que $-19,98 \text{ ‰}$ em ^{13}C podem ser consideradas adulteradas por *grits*.

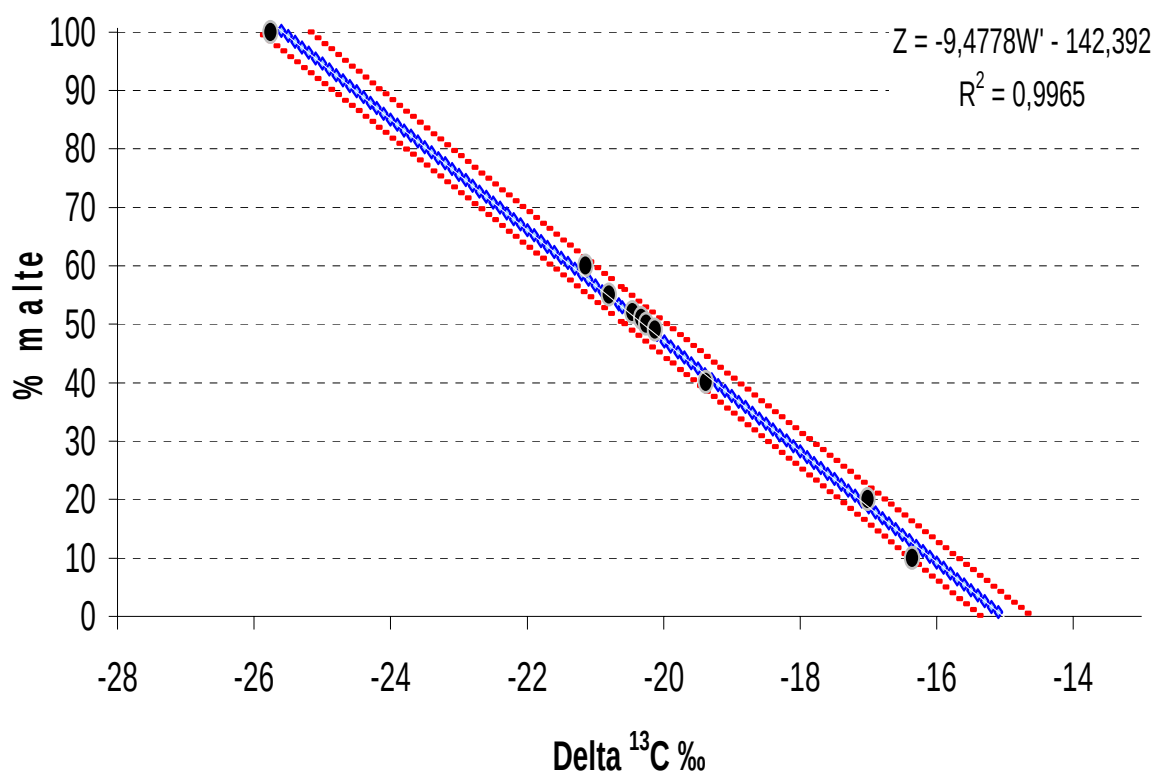


Figura 4: Retas de calibração para cervejas produzidas com malte e *grits*, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados (W_{grits}) de $\delta^{13}C$.

A análise de $\delta^{13}C$ dos fermentados padrões de referência produzidos com malte e HMCS resultou em valores observados (W_{HMCS}), obtidos em função do percentual de malte (Z_{HMCS}) - Tabela 19 - a partir da qual foi realizada a análise de regressão linear invertida apresentada na Tabela 20.

A reta de calibração para cervejas elaboradas com malte e HMCS (equação 12) é proveniente dos valores dos coeficientes encontrados na Tabela 20, e fornece o PMP de malte em cervejas que usam malte e HMCS (Tabela 19).

Tabela 19: Percentual de malte (Z_{HMCS}) das misturas de malte e HMCS, valores de $\delta^{13}C$ observados (W_{HMCS}) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração (h_{HMCS}) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.

Z_{HMCS} (% malte)	W_{HMCS} ($\delta^{13}C$)	intervalo de PMP de malte para a reta h_{HMCS} (% malte)	
90,0	-23,46	87,6	93,2
70,0	-21,52	65,4	70,4
55,0	-20,50	53,7	58,6
52,0	-20,31	51,5	56,4
51,0	-19,98	47,7	52,5
50,0	-19,97	47,6	52,4
45,0	-19,48	41,9	46,8
40,0	-19,20	38,7	43,5
30,1	-18,20	27,0	32,0
10,1	-16,52	7,3	12,9

Tabela 20: Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores Z_{HMCS} e W_{HMCS} .

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,998516
R-Quadrado	0,997034
R-quadrado ajustado	0,996663
Erro padrão	1,238669
Observações	10

ANOVA					
	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	4125,734	4125,7	2689,001	2,1E-11
Resíduo	8	12,2744	1,5343		
Total	9	4138,008			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>Inferior 90,0%</i>	<i>Superior 90,0%</i>
Interseção	-181,037	4,459357	-40,597	1,49E-10	-189,33	-172,745
Variável X 1	-11,5695	0,22311	-51,856	2,12E-11	-11,984	-11,1546

$$h_{HMCS}(\%malte) = -181,037 - 11,5695 * W' \quad (12)$$

A faixa de incerteza para a reta de calibração proveniente de malte e HMCS para $\delta^{13}\text{C}$, situa-se entre $-19,77$ e $-20,17$ ‰. Cerveja com sinal isotópico mais pesado que $-19,77$ ‰ pode ser considerada adulterada por HMCS.

Através da equação 12, obteve-se a Figura 5.

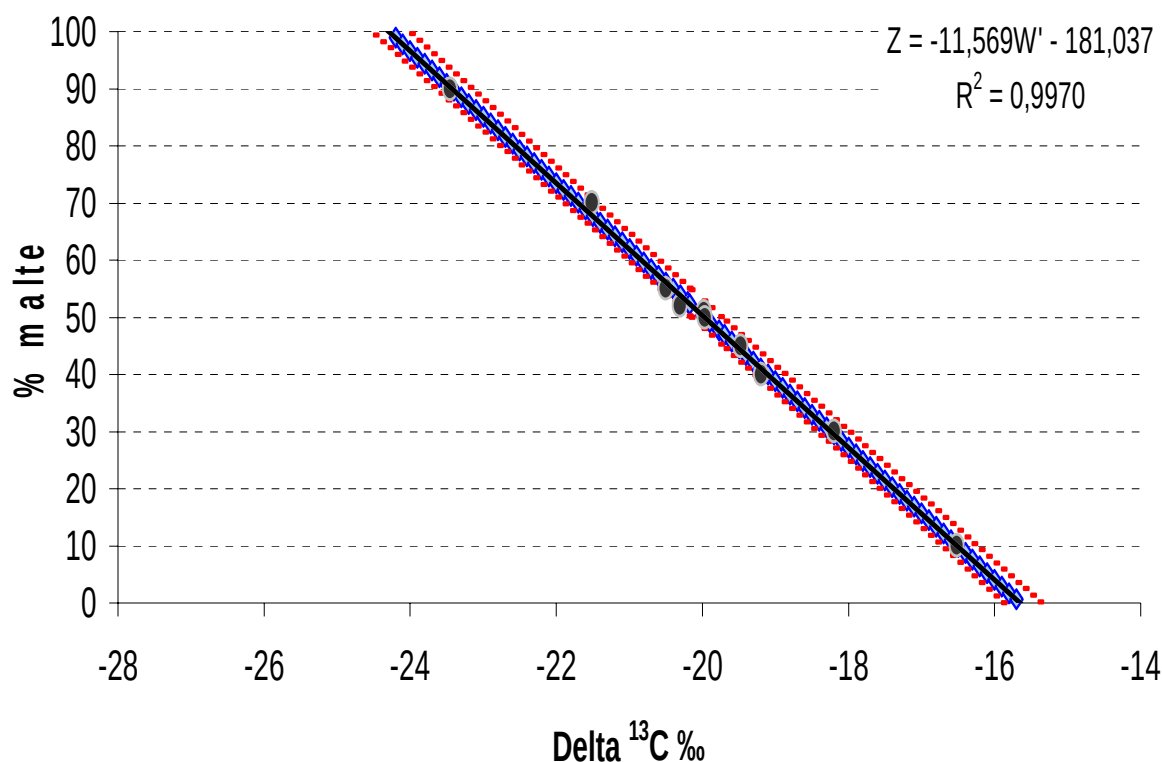


Figura 5: Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e HMCS, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados (W_{HMCS}) de $\delta^{13}\text{C}$.

Na Tabela 21, encontram-se os resultados de $\delta^{13}\text{C}$ dos fermentados padrões de referência de malte e açúcar ($W_{açúcar}$), os quais geraram a Tabela 22, através da análise de regressão linear invertida.

Com os resultados da Tabela 22, se obteve a reta de calibração para cervejas fabricadas com malte e açúcar (equação 13), que fornece o PMP de malte nessas cervejas (Tabela 21).

Tabela 21: Percentual de malte ($Z_{açúcar}$) das misturas de malte e açúcar, valores de $\delta^{13}C$ observados ($W_{açúcar}$) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração ($h_{açúcar}$) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.

$Z_{açúcar}$ (% malte)	$W_{açúcar}$ ($\delta^{13}C$)	intervalo de PMP de malte para a reta $h_{açúcar}$ (% malte)	
70,0	-22,94	66,4	73,0
60,0	-21,66	56,2	62,5
50,0	-20,64	48,1	54,2
0,0	-14,26	-4,0	3,6

Tabela 22: Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores $Z_{açúcar}$ e $W_{açúcar}$.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,999697
R-Quadrado	0,999395
R-quadrado ajustado	0,999092
Erro padrão	0,936433
Observações	4

ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	2896,547662	2896,548	3303,142802	0,0003
Resíduo	2	1,753813162	0,876907		
Total	3	2898,301475			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>Inferior 90,0%</i>	<i>Superior 90,0%</i>
Interseção	-114,955	2,822120356	-40,7337	0,000602145	-123,2	-106,715
Variável X 1	-8,04819	0,140034395	-57,473	0,000302605	-8,4571	-7,63929

$$h_{açúcar}(\%malte) = -114,955 - 8,04819 * W' \quad (13)$$

O Decreto 2.314 afirma que a quantidade de açúcar empregada na elaboração da cerveja não pode ser superior a 15 % na cerveja clara e 10 % na cerveja extra, em relação ao seu extrato primitivo (BRASIL, 1997). Assim, cervejas cujos açúcares são fornecidos exclusivamente por malte e açúcar de cana, que apresentam valores de $\delta^{13}C$ igual a $-24,67 \text{ ‰}$ ($83,59 \pm 3,63 \text{ ‰}$ de malte) já estariam na faixa duvidosa, e valores de $-23,79 \text{ ‰}$

($76,51 \pm 3,45$ % de malte) estariam adulteradas. Para cervejas extras, o valor que as colocaria na faixa de incerteza seria $-25,95$ ‰ ($93,9 \pm 3,94$ % de malte). Na prática industrial, o uso de milho normalmente pode estar associado à utilização conjunta com açúcar de cana. Porém, é impossível através de análise isotópica do carbono verificar se o adulterante é açúcar ou milho (ambas provenientes de plantas de ciclo fotossintético C_4).

Dessa forma, mesmo a cerveja elaborada com malte e açúcar será considerada duvidosa se os valores de $\delta^{13}C$ estiverem compreendidos entre $-20,12$ e $-20,87$ ‰, valores estes que apresentam o limite inferior do intervalo de confiança menor que 50 %, na reta de calibração. Cerveja com sinal isotópico mais pesado que $-20,12$ ‰ pode ser considerada adulterada por açúcar; embora cervejas fabricadas com 50 % de açúcar apresentem problemas de ordem prática durante sua fermentação.

A Figura 6 foi obtida usando-se a equação 13.

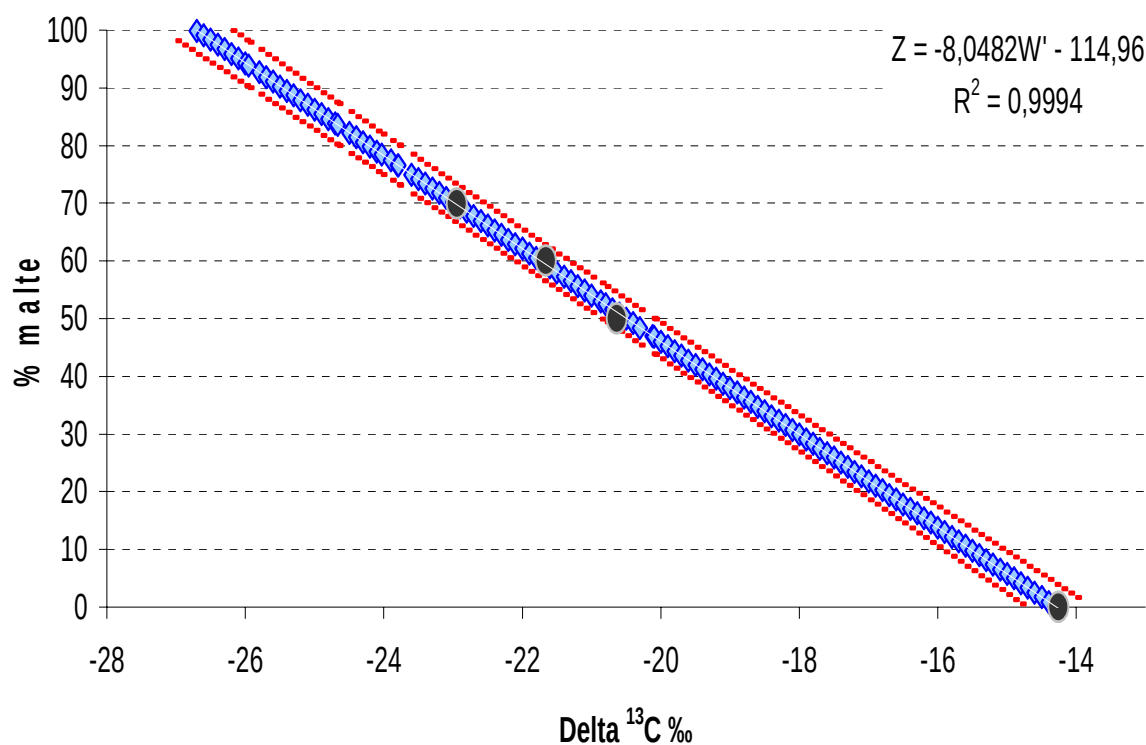


Figura 6: Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e açúcar, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados ($W_{\text{açúcar}}$) de $\delta^{13}\text{C}$.

A Tabela 23 resume as faixas de incerteza para as três misturas realizadas entre malte e as matérias-primas originárias de plantas do ciclo fotossintético C_4 (*grits*, HMCS e açúcar). A partir desses resultados, a Tabela 23 permite afirmar que valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais pesados que $-19,77$ ‰, representam cervejas adulteradas, que utilizaram matérias-primas originárias de plantas de ciclo fotossintético C_4 . Cervejas com valores no intervalo de incerteza entre $-19,77$ a $-20,87$ ‰, encontram-se “sob suspeita” de possível adulteração e cervejas que resultem em valores mais leves que $-20,87$ ‰ em ^{13}C apresentam mais de 50 % de malte em sua composição.

Tabela 23: Faixa de incerteza ($\delta^{13}\text{C}$) para os padrões de referência produzidos com plantas do ciclo fotossintético C_4 .

Padrão de referência (C_4)	Faixa de incerteza ($\delta^{13}\text{C}$)	
<i>Grits</i>	-19,99	-20,61
HMCS	-19,77	-20,17
Açúcar	-20,12	-20,87
Intervalo C_4	-19,77	-20,87

4.2.2. Nitrogênio-15

A análise de ^{15}N dos fermentados padrões de referência de malte e arroz resultou em valores observados (W_{arroz}) que foram gerados em função do percentual de malte (Z_{arroz}), expressos na Tabela 24. A partir destes resultados, foi realizada a análise de regressão linear invertida, apresentada na Tabela 25.

A Tabela 25 gerou a reta de calibração para cervejas elaboradas com malte e arroz (equação 14), através da qual foram calculados os PMP de malte utilizados inicialmente nas misturas produzidas com essas matérias-primas (Tabela 24).

Tabela 24: Percentual de malte (Z_{arroz}) das misturas de malte e arroz, valores de $\delta^{15}\text{N}$ observados (W_{arroz}) e o intervalo de valores calculados do PMP de malte, usando-se a reta de calibração (h_{arroz}) com intervalo de confiança ao nível de 90 %.

Z_{arroz} (% malte)	W_{arroz} ($\delta^{15}\text{N}$)	intervalo de PMP de malte para a reta h_{arroz} (% malte)	
100,0	3,90	97,3	100,0
90,0	4,07	87,6	92,6
60,0	4,58	58,3	62,9
55,0	4,66	53,6	58,2
50,0	4,76	47,9	52,4
49,0	4,79	46,1	50,7
45,0	4,86	42,1	46,6
40,0	4,96	36,3	40,8
30,0	5,08	29,3	33,9
20,0	5,32	15,4	20,1
10,0	5,44	8,4	13,2
0,0	5,61	0,0	3,4

Tabela 25: Estatísticas de regressão invertida, realizada com os valores Z_{arroz} e W_{arroz} .

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,999301
R-Quadrado	0,998603
R-quadrado ajustado	0,998463
Erro padrão	1,154283
Observações	12

ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	9521,474	9521,474	7146,273	1,3E-15
Resíduo	10	13,32369	1,332369		
Total	11	9534,797			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>Inferior 90,0%</i>	<i>Superior 90,0%</i>
Interseção	325,7113	3,328461	97,85642	3,04E-16	319,679	331,744
Variável X 1	-57,8928	0,684833	-84,5356	1,31E-15	-59,134	-56,6516

$$h_{arroz}(\%malte) = 325,7113 - 57,8928 * W' \quad (14)$$

Nessa reta de calibração (equação 14), o valor de δ (W') utilizado é do isótopo de nitrogênio. Para a reta de calibração de $\delta^{15}\text{N}$, também foi possível dimensionar a faixa considerada duvidosa para cervejas produzidas com malte e arroz, variando de 4,73 ‰ ($51,9 \pm 2,28$ % de malte) a 4,80 ‰ ($47,8 \pm 2,28$ % de malte). Cervejas elaboradas com essas matérias-primas, que apresentam valores de ^{15}N mais pesados que 4,80 ‰, possuem menos de 50 % de malte em sua composição.

Através da equação 14, obteve-se a Figura 7.

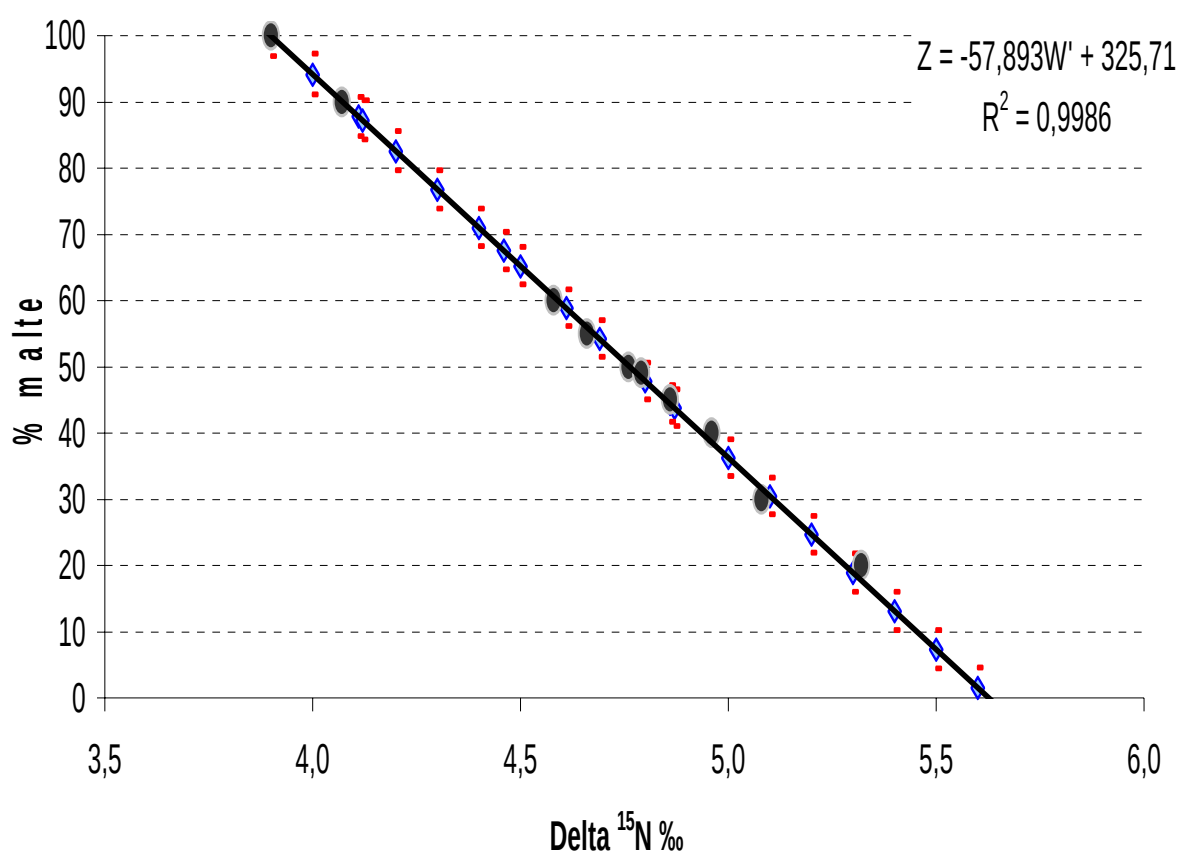


Figura 7: Reta de calibração para cervejas produzidas com malte e arroz, com seu intervalo de confiança. Em negrito os pontos dos valores observados (W_{arroz}) de $\delta^{15}\text{N}$.

4.3. Análises das cervejas comerciais

4.3.1. Análise isotópica

A Tabela 26 mostra os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das cervejas tipo Pilsen fabricadas nas regiões sul, sudeste, norte/centro-oeste e nordeste, além das cervejas extras, com seus respectivos desvios médios.

Tabela 26: Análises isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para cervejas comerciais tipo Pilsen fabricadas nas regiões sul (S), sudeste (SE), norte/centro-oeste (NC), nordeste (NE) e para as extras (EX).

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	Média	Desvio Médio	Média	Desvio Médio
S 01	-28,34	0,08	4,99	0,06
S 02	-28,39	0,02	4,55	0,11
S 03	-21,06	0,05	3,96	0,18
S 04	-20,61	0,04	3,76	0,08
S 05	-20,98	0,01	3,73	0,03
S 06	-21,31	0,04	4,34	0,04
S 07	-21,11	0,01	3,85	0,03
S 08	-27,70	0,01	2,88	0,09
S 09	-21,28	0,03	3,55	0,04
S 10	-20,92	0,08	3,34	0,04
S 11	-20,71	0,01	3,41	0,02
S 12	-21,02	0,06	3,13	0,08
S 13	-21,01	0,02	3,23	0,01
S 14	-22,76	0,03	3,39	0,02
S 15	-20,64	0,17	3,45	0,05
S 16	-21,10	0,02	3,52	0,01
S 17	-23,29	0,07	4,09	0,16
S 18	-21,02	0,03	3,19	0,01
S 19	-21,81	0,01	3,22	0,01
S 20	-27,18	0,02	3,58	0,10
S 21	-22,30	0,01	3,11	0,04
S 22	-22,76	0,10	3,83	0,05
S 23	-21,76	0,04	2,94	0,04
S 24	-22,15	0,01	3,08	0,09
S 25	-19,83	0,11	2,90	0,01
S 26	-21,47	0,02	3,12	0,01
S 27	-20,68	0,02	3,74	0,10

continuação

S 28	-21,40	0,02	3,50	0,12
S 29	-20,52	0,05	3,92	0,02
S 30	-20,67	0,03	3,97	0,01
S 31	-20,83	0,06	3,72	0,01
S 32	-20,95	0,02	4,00	0,05
S 33	-22,51	0,05	3,61	0,02
S 34	-22,55	0,17	3,44	0,02
SE 01	-20,97	0,19	3,42	0,02
SE 02	-21,07	0,01	4,85	0,06
SE 03	-20,78	0,14	3,48	0,03
SE 04	-21,39	0,01	3,11	0,11
SE 05	-21,44	0,03	3,03	0,06
SE 06	-21,55	0,20	3,09	0,02
SE 07	-22,63	0,09	3,22	0,08
SE 08	-22,57	0,14	4,20	0,13
SE 09	-20,71	0,06	3,71	0,06
SE 10	-22,03	0,04	4,78	0,20
SE 11	-21,44	0,02	3,74	0,02
SE 12	-20,47	0,02	4,20	0,04
SE 13	-20,35	0,06	3,72	0,08
SE 14	-20,23	0,05	3,88	0,01
SE 15	-20,82	0,01	3,93	0,02
SE 16	-22,88	0,13	3,24	0,01
SE 17	-28,08	0,02	3,75	0,07
SE 18	-22,56	0,02	3,78	0,20
SE 19	-21,77	0,01	3,51	0,04
SE 20	-21,81	0,02	3,36	0,06
SE 21	-20,20	0,02	2,93	0,01
SE 22	-21,70	0,07	4,51	0,01
SE 23	-21,08	0,03	3,85	0,07
SE 24	-21,50	0,08	3,81	0,03
SE 25	-21,74	0,10	3,74	0,04
SE 26	-21,38	0,11	3,86	0,04
SE 27	-23,01	0,03	3,56	0,06
SE 28	-22,78	0,05	3,36	0,10
SE 29	-23,10	0,01	3,64	0,04
SE 30	-21,25	0,07	4,89	0,02
SE 31	-21,34	0,20	3,77	0,05
SE 32	-21,20	0,11	4,36	0,01
SE 33	-20,82	0,08	4,00	0,13
SE 34	-21,26	0,04	4,09	0,14
SE 35	-21,28	0,04	4,02	0,15
SE 36	-21,61	0,03	4,22	0,01
SE 37	-21,64	0,08	3,95	0,02
SE 38	-21,50	0,02	4,00	0,01

continuação

SE 39	-21,06	0,07	3,49	0,01
SE 40	-21,44	0,03	3,61	0,04
SE 41	-22,46	0,03	3,21	0,12
SE 42	-19,63	0,03	3,97	0,17
SE 43	-21,61	0,04	3,71	0,04
SE 44	-21,51	0,03	3,50	0,02
SE 45	-21,56	0,01	3,52	0,06
SE 46	-21,91	0,03	3,34	0,04
SE 47	-19,65	0,02	3,12	0,03
SE 48	-22,11	0,04	3,16	0,08
SE 49	-27,80	0,06	3,25	0,01
SE 50	-21,98	0,01	3,41	0,02
SE 51	-26,30	0,04	3,87	0,08
SE 52	-22,36	0,15	3,48	0,15
SE 53	-19,30	0,03	3,51	0,08
SE 54	-19,63	0,13	3,95	0,12
SE 55	-20,98	0,01	2,80	0,10
SE 56	-20,43	0,04	3,57	0,05
SE 57	-20,26	0,02	3,21	0,12
SE 58	-22,35	0,02	4,56	0,13
SE 59	-20,33	0,01	4,17	0,19
SE 60	-22,24	0,13	3,63	0,02
SE 61	-21,15	0,13	4,10	0,04
SE 62	-20,93	0,07	4,10	0,02
SE 63	-20,62	0,12	4,61	0,06
SE 64	-21,39	0,04	3,17	0,19
SE 65	-19,86	0,01	2,93	0,01
SE 66	-21,25	0,12	3,47	0,14
SE 67	-19,59	0,11	3,08	0,11
SE 68	-21,80	0,06	3,40	0,02
SE 69	-21,59	0,02	3,01	0,03
SE 70	-27,01	0,06	2,98	0,01
SE 71	-20,41	0,05	3,65	0,06
NC 01	-27,12	0,08	4,29	0,20
NC 02	-27,36	0,07	4,73	0,01
NC 03	-26,89	0,10	3,91	0,05
NC 04	-21,75	0,01	3,37	0,02
NC 05	-21,79	0,01	3,29	0,15
NC 06	-20,63	0,02	3,48	0,06
NC 07	-20,54	0,02	3,57	0,19
NC 08	-20,64	0,04	3,99	0,22
NC 09	-20,66	0,03	3,27	0,10
NC 10	-20,73	0,03	3,39	0,03
NC 11	-20,56	0,04	4,76	0,09
NC 12	-22,58	0,07	3,50	0,05

continuação

NC 13	-22,55	0,04	3,55	0,04
NC 14	-20,05	0,05	3,75	0,01
NC 15	-20,62	0,06	6,59	0,13
NC 16	-20,47	0,04	3,39	0,04
NC 17	-20,53	0,01	3,17	0,06
NC 18	-28,33	0,05	4,33	0,05
NC 19	-28,60	0,05	4,30	0,01
NE 01	-20,17	0,12	4,40	0,06
NE 02	-21,04	0,16	3,03	0,01
NE 03	-20,94	0,11	3,60	0,06
NE 04	-20,84	0,04	4,70	0,01
NE 05	-20,95	0,04	5,38	0,06
NE 06	-20,75	0,07	5,08	0,19
NE 07	-21,00	0,13	4,59	0,04
NE 08	-20,77	0,08	4,85	0,04
NE 09	-20,59	0,08	5,07	0,10
NE 10	-20,84	0,01	3,42	0,02
NE 11	-23,03	0,03	3,41	0,08
NE 12	-22,52	0,07	2,91	0,07
NE 13	-19,84	0,02	2,97	0,06
NE 14	-21,10	0,04	4,39	0,02
NE 15	-21,43	0,13	3,88	0,13
NE 16	-20,86	0,02	3,67	0,09
NE 17	-22,05	0,07	3,14	0,03
NE 18	-27,36	0,04	3,52	0,11
NE 19	-21,69	0,01	3,13	0,18
NE 20	-20,82	0,01	3,68	0,06
NE 21	-21,09	0,04	3,45	0,08
NE 22	-20,82	0,03	3,31	0,04
NE 23	-22,18	0,02	3,17	0,09
NE 24	-20,22	0,05	3,35	0,16
NE 25	-22,35	0,01	3,45	0,01
NE 26	-21,80	0,04	3,29	0,04
NE 27	-20,94	0,05	3,54	0,10
NE 28	-20,61	0,01	4,11	0,07
NE 29	-20,97	0,01	3,54	0,06
EX 01	-19,92	0,01	4,43	0,04
EX 02	-22,23	0,02	3,96	0,05
EX 03	-21,00	0,06	3,68	0,18
EX 04	-23,89	0,01	3,57	0,01
EX 05	-20,59	0,03	3,65	0,11
EX 06	-22,51	0,03	2,82	0,08
EX 07	-21,19	0,01	4,25	0,08
EX 08	-23,74	0,02	4,06	0,06

Como os desvio médios das amostras de cervejas encontram-se dentro do erro analítico permitido (0,2 ‰ para carbono e 0,3 ‰ para nitrogênio), estes não foram levados em conta na construção das Tabelas 27 e 28.

Tabela 27*: Valores de $\delta^{13}\text{C}$ para cervejas comerciais tipo Pilsen e Pilsen extra com o intervalo de PMP de malte encontrado para as retas de calibração com *grits*, HMCS e açúcar.

amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	intervalo de PMP para a reta h_{grits} (% de malte)		intervalo de PMP para a reta h_{HMCS} (% de malte)		intervalo de PMP para a reta $h_{açúcar}$ (% de malte)	
S 01	-28,34	122,0	130,4	142,6	151,1	108,5	117,7
S 02	-28,39	122,4	130,9	143,2	151,7	108,9	118,2
S 03	-21,06	54,2	60,2	60,2	65,1	51,4	57,6
S 04	-20,61	50,0	55,9	55,0	59,8	47,8	54,0
S 05	-20,98	53,5	59,4	59,2	64,1	50,8	57,0
S 06	-21,31	56,6	62,6	63,0	68,0	53,4	59,7
S 07	-21,11	54,7	60,7	60,7	65,7	51,8	58,0
S 08	-27,70	116,1	124,2	135,4	143,5	103,6	112,4
S 09	-21,28	56,3	62,3	62,7	67,6	53,2	59,4
S 10	-20,92	52,9	58,9	58,5	63,4	50,3	56,5
S 11	-20,71	50,9	56,9	56,1	61,0	48,6	54,8
S 12	-21,02	53,9	59,8	59,7	64,6	51,1	57,3
S 13	-21,01	53,8	59,7	59,6	64,5	51,0	57,2
S 14	-22,76	70,2	76,4	79,6	85,0	64,9	71,5
S 15	-20,64	50,3	56,2	55,3	60,2	48,1	54,2
S 16	-21,10	54,6	60,6	60,6	65,5	51,8	58,0
S 17	-23,29	75,2	81,5	85,6	91,2	69,1	75,8
S 18	-21,02	53,9	59,8	59,7	64,6	51,1	57,3
S 19	-21,81	61,3	67,3	68,8	73,8	57,4	63,7
S 20	-27,18	111,3	119,1	129,6	137,3	99,5	108,1
S 21	-22,30	65,9	72,0	74,4	79,6	61,3	67,7
S 22	-22,76	70,2	76,4	79,6	85,0	64,9	71,5
S 23	-21,76	60,8	66,9	68,2	73,3	57,0	63,3
S 24	-22,15	64,5	70,6	72,6	77,8	60,1	66,5
S 25	-19,83	42,6	48,5	46,0	50,8	41,6	47,7
S 26	-21,47	58,1	64,1	64,9	69,9	54,7	61,0
S 27	-20,68	50,7	56,6	55,8	60,7	48,4	54,6
S 28	-21,40	57,4	63,4	64,1	69,0	54,2	60,4
S 29	-20,52	49,1	55,0	53,9	58,8	47,1	53,3
S 30	-20,67	50,6	56,5	55,7	60,5	48,3	54,5
S 31	-20,83	52,1	58,0	57,5	62,4	49,6	55,8
S 32	-20,95	53,2	59,1	58,9	63,8	50,6	56,7
S 33	-22,51	67,9	74,0	76,7	82,0	63,0	69,5

continuação							
S 34	-22,55	68,3	74,4	77,2	82,5	63,3	69,8
SE 01	-20,97	53,4	59,3	59,1	64,0	50,7	56,9
SE 02	-21,07	54,3	60,3	60,3	65,2	51,5	57,7
SE 03	-20,78	51,6	57,5	56,9	61,8	49,2	55,4
SE 04	-21,39	57,4	63,3	63,9	68,9	54,1	60,3
SE 05	-21,44	57,8	63,8	64,5	69,5	54,5	60,7
SE 06	-21,55	58,9	64,9	65,8	70,8	55,4	61,6
SE 07	-22,63	69,0	75,2	78,1	83,4	63,9	70,4
SE 08	-22,57	68,4	74,6	77,4	82,7	63,4	69,9
SE 09	-20,71	50,9	56,9	56,1	61,0	48,6	54,8
SE 10	-22,03	63,4	69,4	71,3	76,4	59,2	65,5
SE 11	-21,44	57,8	63,8	64,5	69,5	54,5	60,7
SE 12	-20,47	48,7	54,6	53,4	58,2	46,7	52,9
SE 13	-20,35	47,5	53,4	52,0	56,8	45,8	51,9
SE 14	-20,23	46,4	52,3	50,6	55,4	44,8	50,9
SE 15	-20,82	52,0	57,9	57,4	62,3	49,5	55,7
SE 16	-22,88	71,3	77,6	81,0	86,4	65,9	72,5
SE 17	-28,08	119,6	127,9	139,7	148,0	106,5	115,6
SE 18	-22,56	68,3	74,5	77,3	82,6	63,4	69,9
SE 19	-21,77	60,9	67,0	68,3	73,4	57,1	63,4
SE 20	-21,81	61,3	67,3	68,8	73,8	57,4	63,7
SE 21	-20,20	46,1	52,0	50,2	55,1	44,6	50,7
SE 22	-21,70	60,3	66,3	67,5	72,5	56,5	62,8
SE 23	-21,08	54,4	60,4	60,4	65,3	51,6	57,8
SE 24	-21,50	58,4	64,4	65,2	70,2	55,0	61,2
SE 25	-21,74	60,6	66,7	68,0	73,0	56,9	63,2
SE 26	-21,38	57,3	63,2	63,8	68,8	54,0	60,2
SE 27	-23,01	72,6	78,8	82,4	87,9	66,9	73,5
SE 28	-22,78	70,4	76,6	79,8	85,2	65,1	71,7
SE 29	-23,10	73,4	79,7	83,5	89,0	67,6	74,3
SE 30	-21,25	56,0	62,0	62,3	67,3	53,0	59,2
SE 31	-21,34	56,9	62,9	63,4	68,3	53,7	59,9
SE 32	-21,20	55,6	61,5	61,8	66,7	52,6	58,8
SE 33	-20,82	52,0	57,9	57,4	62,3	49,5	55,7
SE 34	-21,26	56,1	62,1	62,5	67,4	53,0	59,3
SE 35	-21,28	56,3	62,3	62,7	67,6	53,2	59,4
SE 36	-21,61	59,4	65,4	66,5	71,5	55,8	62,1
SE 37	-21,64	59,7	65,7	66,8	71,8	56,1	62,3
SE 38	-21,50	58,4	64,4	65,2	70,2	55,0	61,2
SE 39	-21,06	54,2	60,2	60,2	65,1	51,4	57,6
SE 40	-21,44	57,8	63,8	64,5	69,5	54,5	60,7
SE 41	-22,46	67,4	73,6	76,2	81,5	62,6	69,0
SE 42	-19,63	40,7	46,6	43,7	48,5	40,0	46,1
SE 43	-21,61	59,4	65,4	66,5	71,5	55,8	62,1
SE 44	-21,51	58,5	64,5	65,3	70,3	55,0	61,3

continuação

SE 45	-21,56	59,0	64,9	65,9	70,9	55,4	61,7
SE 46	-21,91	62,2	68,3	69,9	75,0	58,2	64,5
SE 47	-19,65	40,9	46,8	43,9	48,7	40,1	46,3
SE 48	-22,11	64,1	70,2	72,2	77,3	59,8	66,2
SE 49	-27,80	117,0	125,2	136,5	144,7	104,3	113,2
SE 50	-21,98	62,9	69,0	70,7	75,8	58,8	65,1
SE 51	-26,30	103,1	110,6	119,7	126,8	92,7	100,7
SE 52	-22,36	66,5	72,6	75,0	80,3	61,8	68,2
SE 53	-19,30	37,6	43,5	39,8	44,7	37,3	43,4
SE 54	-19,63	40,7	46,6	43,7	48,5	40,0	46,1
SE 55	-20,98	53,5	59,4	59,2	64,1	50,8	57,0
SE 56	-20,43	48,3	54,2	52,9	57,8	46,4	52,5
SE 57	-20,26	46,7	52,6	50,9	55,8	45,0	51,2
SE 58	-22,35	66,4	72,5	74,9	80,2	61,7	68,1
SE 59	-20,33	47,3	53,2	51,7	56,6	45,6	51,7
SE 60	-22,24	65,3	71,4	73,7	78,9	60,8	67,2
SE 61	-21,15	55,1	61,0	61,2	66,1	52,2	58,4
SE 62	-20,93	53,0	58,9	58,7	63,6	50,4	56,6
SE 63	-20,62	50,1	56,0	55,1	60,0	47,9	54,1
SE 64	-21,39	57,4	63,3	63,9	68,9	54,1	60,3
SE 65	-19,86	42,9	48,8	46,3	51,1	41,8	47,9
SE 66	-21,25	56,0	62,0	62,3	67,3	53,0	59,2
SE 67	-19,59	40,3	46,2	43,2	48,0	39,6	45,8
SE 68	-21,80	61,2	67,2	68,6	73,7	57,3	63,7
SE 69	-21,59	59,2	65,2	66,2	71,3	55,7	61,9
SE 70	-27,01	109,7	117,5	127,6	135,3	98,2	106,7
SE 71	-20,41	48,1	54,0	52,7	57,5	46,2	52,4
NC 01	-27,12	110,7	118,6	128,9	136,6	99,1	107,6
NC 02	-27,36	112,9	120,9	131,6	139,4	100,9	109,6
NC 03	-26,89	108,6	116,3	126,3	133,8	97,3	105,7
NC 04	-21,75	60,7	66,8	68,1	73,1	56,9	63,2
NC 05	-21,79	61,1	67,1	68,5	73,6	57,3	63,6
NC 06	-20,63	50,2	56,1	55,2	60,1	48,0	54,2
NC 07	-20,54	49,3	55,2	54,2	59,0	47,3	53,4
NC 08	-20,64	50,3	56,2	55,3	60,2	48,1	54,2
NC 09	-20,66	50,5	56,4	55,6	60,4	48,2	54,4
NC 10	-20,73	51,1	57,0	56,4	61,2	48,8	55,0
NC 11	-20,56	49,5	55,4	54,4	59,3	47,4	53,6
NC 12	-22,58	68,5	74,7	77,5	82,9	63,5	70,0
NC 13	-22,55	68,3	74,4	77,2	82,5	63,3	69,8
NC 14	-20,05	44,7	50,6	48,5	53,3	43,4	49,5
NC 15	-20,62	50,1	56,0	55,1	60,0	47,9	54,1
NC 16	-20,47	48,7	54,6	53,4	58,2	46,7	52,9
NC 17	-20,53	49,2	55,1	54,1	58,9	47,2	53,3
NC 18	-28,33	121,9	130,3	142,5	151,0	108,4	117,7

continuação							
NC 19	-28,60	124,4	133,0	145,5	154,2	110,5	119,9
NE 01	-20,17	45,8	51,7	49,9	54,7	44,3	50,4
NE 02	-21,04	54,1	60,0	59,9	64,8	51,3	57,5
NE 03	-20,94	53,1	59,0	58,8	63,7	50,5	56,7
NE 04	-20,84	52,2	58,1	57,6	62,5	49,7	55,9
NE 05	-20,95	53,2	59,1	58,9	63,8	50,6	56,7
NE 06	-20,75	51,3	57,2	56,6	61,5	49,0	55,1
NE 07	-21,00	53,7	59,6	59,5	64,4	51,0	57,1
NE 08	-20,77	51,5	57,4	56,8	61,7	49,1	55,3
NE 09	-20,59	49,8	55,7	54,7	59,6	47,7	53,8
NE 10	-20,84	52,2	58,1	57,6	62,5	49,7	55,9
NE 11	-23,03	72,7	79,0	82,7	88,1	67,1	73,7
NE 12	-22,52	68,0	74,1	76,9	82,2	63,0	69,5
NE 13	-19,84	42,7	48,6	46,1	50,9	41,7	47,8
NE 14	-21,10	54,6	60,6	60,6	65,5	51,8	58,0
NE 15	-21,43	57,7	63,7	64,4	69,4	54,4	60,6
NE 16	-20,86	52,4	58,3	57,9	62,8	49,8	56,0
NE 17	-22,05	63,6	69,6	71,5	76,6	59,3	65,7
NE 18	-27,36	112,9	120,9	131,6	139,4	100,9	109,6
NE 19	-21,69	60,2	66,2	67,4	72,4	56,5	62,8
NE 20	-20,82	52,0	57,9	57,4	62,3	49,5	55,7
NE 21	-21,09	54,5	60,5	60,5	65,4	51,7	57,9
NE 22	-20,82	52,0	57,9	57,4	62,3	49,5	55,7
NE 23	-22,18	64,8	70,9	73,0	78,2	60,4	66,8
NE 24	-20,22	46,3	52,2	50,5	55,3	44,7	50,8
NE 25	-22,35	66,4	72,5	74,9	80,2	61,7	68,1
NE 26	-21,80	61,2	67,2	68,6	73,7	57,3	63,7
NE 27	-20,94	53,1	59,0	58,8	63,7	50,5	56,7
NE 28	-20,61	50,0	55,9	55,0	59,8	47,8	54,0
NE 29	-20,97	53,4	59,3	59,1	64,0	50,7	56,9
EX 01	-19,92	43,5	49,4	47,0	51,8	42,3	48,4
EX 02	-22,23	65,2	71,4	73,6	78,8	60,8	67,2
EX 03	-21,00	53,7	59,6	59,5	64,4	51,0	57,1
EX 04	-23,89	80,8	87,3	92,4	98,3	73,8	80,8
EX 05	-20,59	49,8	55,7	54,7	59,6	47,7	53,8
EX 06	-22,51	67,9	74,0	76,7	82,0	63,0	69,5
EX 07	-21,19	55,5	61,4	61,6	66,6	52,5	58,7
EX 08	-23,74	79,4	85,8	90,7	96,5	72,7	79,6

* Tabela 27 = valores apontados na cor **preta** indicam que a amostra está na faixa legal quanto ao PMP de malte, na cor **verde** indicam que a amostra está na faixa de incerteza, na cor **vermelha** indicam que a amostra está adulterada para a reta em questão, e na cor **azul** indicam a necessidade de se verificar os valores de $\delta^{15}\text{N}$ das amostras.

As cervejas S 04, S 11, S 15, S 27, S 30, S 31, SE 03, SE 09, SE 15, SE 33, SE 63, NC 06, NC 08, NC 09, NC 10, NC 15, NE 04, NE 06, NE 08, NE 10, NE 20, NE 22 e NE 28 apresentam-se na faixa de incerteza quanto ao PMP de malte para apenas uma reta de calibração ($h_{açúcar}$). Portanto, como na prática é muito difícil se produzir cerveja utilizando-se 50 % de malte e 50 % de açúcar como fonte de carboidratos, e as outras retas não as condenam, elas seriam consideradas legais perante a legislação.

As cervejas S 29, SE 12, SE 13, SE 14, SE 21, SE 56, SE 57, SE 59, SE 71, NC 07, NC 11, NC 16, NC 17, NE 09, NE 24 e EX 05 apresentam-se na faixa de incerteza quanto ao PMP de malte para duas retas de calibração ($h_{açúcar}$ e h_{grits}). Isso significa dizer que se estas cervejas utilizaram malte e *grits* e/ou açúcar em sua composição, elas estariam adulteradas; porém, se utilizaram malte e HMCS estão de acordo com a legislação. Schmidt et al. (1980) quantificaram presença de milho nas cervejas em até 5 %, com intervalo de confiança de ± 3 %.

A cerveja NE 01 apresenta-se na faixa de incerteza quanto ao PMP de malte para as três retas de calibração ($h_{açúcar}$, h_{grits} e h_{HMCS}). A cerveja NC 14 apresenta-se adulterada para uma reta de calibração ($h_{açúcar}$), porém na faixa de incerteza para as demais retas, e as amostras S 25, SE 65, NE 13 e EX 01 apresentam-se adulteradas para duas retas de calibração ($h_{açúcar}$ e h_{grits}), porém a terceira reta a coloca na faixa de incerteza, ou seja, caso tenha sido fabricada com HMCS, ela pode não estar adulterada.

Do total das cervejas analisadas, 28,0 % delas apresentaram valores de $\delta^{13}C$ para pelo menos uma das retas de calibração, deixando-as em situação suspeita, quanto ao PMP de malte em sua composição.

As cervejas SE 42, SE 47, SE 53, SE 54 e SE 67 apresentam-se adulteradas para as três retas de calibração, o que significa dizer que 3,1 % das cervejas analisadas certamente apresentam-se com mais de 50 % de adjunto proveniente de planta de ciclo C_4 , como fonte de carboidrato em sua composição.

A amostra SE 71, destinada à exportação, declara na língua inglesa, apenas a presença de água, malte e lúpulo, fato comprovadamente não verdadeiro através da análise de $\delta^{13}C$, que resultou em valor de $-20,41$ ‰, indicando a presença de fonte de ciclo fotossintético C_4 .

Do total, 91,3 % das cervejas (Tabela 27) usam adjunto cervejeiro proveniente de planta de ciclo fotossintético C_4 . Brooks et. al. (2002) analisaram 31 cervejas brasileiras e encontraram cervejas com adjunto proveniente de C_4 em 90 % delas, com valores médios de $48,7 \pm 10,8$ % de C_4 .

As cervejas S 01, S 02, S 08, S 20, SE 17, SE 49, SE 51, SE 70, NC 01, NC 02, NC 03, NC 18, NC 19 e NE 18 apresentaram valores de $\delta^{13}C$ isentos da utilização de plantas do ciclo C_4 , que representam 8,7 % das cervejas analisadas, sendo 2,5 % da região sul, 2,5 % do sudeste, 3,1 % do norte/centro-oeste e 0,6 % do nordeste. Como estas cervejas apresentam valor isotópico de plantas de ciclo C_3 , procedeu-se a verificação do PMP de malte na reta h_{arroz} (Tabela 28).

Tabela 28*: Valores de $\delta^{15}N$ para cervejas comerciais tipo Pilsen com o intervalo de PMP de malte encontrado para a reta de calibração com arroz.

amostra	$\delta^{15}N$ (‰)	intervalo de PMP para a reta h_{arroz} (% de malte)	
S 01	4,99	34,5	39,1
S 02	4,55	60,0	64,6
S 08	2,88	100,0	100,0
S 20	3,58	100,0	100,0
SE 17	3,75	100,0	100,0
SE 49	3,25	100,0	100,0
SE 51	3,87	99,1	100,0
SE 70	2,98	100,0	100,0
NC 01	4,29	75,0	79,7
NC 02	4,73	49,6	54,2
NC 03	3,91	96,8	100,0
NC 18	4,33	72,7	77,4
NC 19	4,30	74,4	79,2
NE 18	3,52	100,0	100,0

* Tabela 28 = valores apontados na cor **preta** indicam que a amostra está na faixa legal quanto ao PMP de malte, na cor **verde** indicam que a amostra está na faixa de incerteza, na cor **vermelha** indicam que a amostra está adulterada para a reta em questão, e na cor **azul** indicam que a amostra é “puro malte”.

Analisando-se os valores de $\delta^{15}N$ das cervejas que não apresentaram ingredientes provenientes de plantas de ciclo C_4 , verifica-se que as cervejas S 01, S 02, NC 01,

NC 02, NC 18 e NC 19 apresentam arroz em sua formulação. A cerveja NC 03, embora apresente valores de PMP de malte em até 100 %, também apresenta arroz em sua composição, o que é confirmado pela descrição contida em seu rótulo, o qual afirma possuir dentre os ingredientes “cereais não malteados” e “carboidratos”. Destas cervejas, a S 01 apresentou menos de 50 % de malte em sua composição, portanto adulterada, levando-se em conta a legislação brasileira (BRASIL, 1997), enquanto que a cerveja NC 02 ficou no intervalo de incerteza quanto ao PMP de malte, sendo que as demais citadas estão dentro do limite legal de 50 %. Portanto, 4,3 % possuem arroz em sua composição.

As cervejas (S 08, S 20, SE 17, SE 49, SE 51, SE 70 e NE 18) descrevem em seus rótulos a inscrição “puro malte” ou “lei da pureza”. A análise de $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 28) possibilitou a comprovação das afirmações declaradas no rótulos destes produtos, o que representou 4,3 % dentre todas as das amostras analisadas.

Das 161 amostras de cervejas, 95,7 % utilizam malte e adjunto cervejeiro, sendo que 3,7 % (S 01, SE 42, SE 47, SE 67, SE 53 e SE 54) estão adulteradas, 28,6 % do total estão na faixa de incerteza quanto ao PMP de malte para qualquer tipo de adjunto e as demais apresentam PMP de malte dentro da faixa considerada legal por Brasil (1997).

As amostras de cervejas refletem o PMP de malte de cada lote analisado para cada marca, isto é, lotes diferentes de uma mesma marca de cerveja poderiam apresentar resultados distintos. Isso não significa dizer que o fabricante teria necessariamente agido de “má fé” para as cervejas consideradas sob suspeita de adulteração (faixa de incerteza) ou adulteradas. Poderia ter havido algum problema na sala de cozimento (erro na pesagem da matéria-prima, diferença de fermentabilidade entre diferentes matérias-primas, perda de extrato na filtração, etc.), o que resultaria em valores isotópicos dúbios ou característicos de material adulterado.

4.3.2. Análise físico-química

As análises físico-químicas das cervejas Pilsen comerciais (Tabelas 29 a 32) estão separadas da seguinte forma: região sul (S), sudeste (SE), norte/centro-oeste (NC) e nordeste (NE). As cervejas extras estão mostradas na Tabela 33, independente dos estados onde foram fabricadas.

A diferença entre o teor alcoólico declarado no rótulo e o valor analisado variou em até $\pm 0,5$ °GL em todas as cervejas das regiões sul e nordeste. Apenas uma amostra da região norte/centro-oeste (NC 18) e seis amostras da região sudeste (SE 21, SE 30, SE 39, SE 41, SE 56 e SE 67) apresentaram diferenças superiores a 0,5 °GL, variando de 0,6 a 0,9 °GL, portanto fora dos padrões legais, haja vista que o limite ($\pm 0,5$ °GL) é definido por Brasil (2001). O teor alcoólico das cervejas analisadas variou de 3,7 °GL (SE 67) no sudeste até 4,9 °GL, com amostras de todas as regiões (Tabelas 29 a 32). Em todas as regiões o teor alcoólico encontrado ficou dentro da faixa proposta por Hardwick (1995), que é de 2,5 a 5,0 °GL para cervejas de baixa fermentação. O valor médio na região sudeste foi de $4,4 \pm 0,3$ °GL, semelhante à média das demais regiões, que foi de $4,5 \pm 0,2$ °GL.

Tabela 29: Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes da região Sul.

cerveja	teor alc. (°GL) declarado	teor alc. (°GL) analisado	extrato real (°Brix)	extrato aparente (°Brix)	pH	acidez total (%)	cor (EBC*)	turbidez (EBC*)	amargor (U.A. **)
S 01	4,2	4,7	3,8	2,1	4,3	0,18	7,9	0,8	15
S 02	4,0	4,5	3,9	2,5	4,4	0,19	7,7	1,3	15
S 03	5,0	4,8	4,0	2,2	3,9	0,22	6,1	0,5	12
S 04	4,8	4,6	4,1	2,5	3,9	0,28	6,1	0,5	12
S 05	4,7	4,7	3,8	2,1	3,9	0,16	6,1	0,5	10
S 06	5,0	4,9	4,1	2,4	4,0	0,18	6,7	0,6	8
S 07	4,9	4,7	3,8	2,1	3,9	0,15	6,2	0,5	10
S 08	4,8	4,8	4,1	2,4	4,4	0,21	11,3	0,9	14
S 09	4,7	4,4	4,1	2,5	4,1	0,30	6,3	0,8	12
S 10	4,8	4,6	4,0	2,4	4,0	0,20	5,8	0,6	9
S 11	4,9	4,7	3,7	2,0	4,1	0,19	5,8	0,7	10
S 12	5,0	4,8	4,0	2,2	4,1	0,16	6,1	0,7	10
S 13	4,7	4,5	4,1	2,4	4,2	0,19	7,3	1,1	11
S 14	4,9	4,6	3,9	2,3	4,3	0,28	6,4	1,2	11
S 15	4,7	4,7	3,9	2,2	4,0	0,17	5,3	0,4	11
S 16	4,8	4,6	3,9	2,3	4,0	0,18	5,5	0,4	11
S 17	4,9	4,4	3,7	2,2	4,0	0,18	5,8	0,5	10
S 18	5,0	4,7	4,0	2,3	4,0	0,18	5,3	0,4	9
S 19	4,6	4,5	3,7	2,2	4,0	0,15	5,3	0,4	12
S 20	4,8	4,5	3,9	2,3	4,2	0,20	6,3	0,4	15
S 21	4,5	4,3	3,8	2,2	4,0	0,16	5,3	0,4	12
S 22	4,7	4,5	4,2	2,6	4,1	0,17	5,1	0,6	10
S 23	4,6	4,2	4,1	2,5	4,1	0,14	5,6	0,5	10
S 24	4,5	4,2	3,9	2,3	4,1	0,14	5,1	0,5	11
S 25	4,7	4,5	4,1	2,4	4,0	0,13	5,3	0,3	12
S 26	4,2	3,9	3,7	2,2	4,0	0,18	4,7	0,4	12
S 27	4,0	4,0	4,2	2,8	3,9	0,15	6,9	4,5	7
S 28	4,0	4,0	4,3	2,8	4,0	0,13	6,3	1,1	8
S 29	4,7	4,5	4,0	2,4	3,9	0,15	5,6	0,6	9
S 30	4,9	4,6	4,0	2,4	3,9	0,17	5,6	0,8	10
S 31	4,8	4,5	3,9	2,2	4,0	0,15	5,6	0,8	10
S 32	5,0	4,7	4,1	2,4	4,1	0,15	5,4	0,7	10
S 33	4,7	4,3	3,8	2,2	4,0	0,19	6,2	1,3	8
S 34	4,5	4,3	4,1	2,5	4,0	0,18	8,7	3,7	7
Média	4,7	4,5	4,0	2,3	4,1	0,18	6,2	0,9	10,7
	± 0,3	± 0,2	± 0,2	± 0,2	± 0,14	± 0,04	± 1,3	± 0,9	± 2,1

* EBC = Unidade adotada pela European Brewery Convention (1987),

** U.A. = Unidades de Amargor.

Quanto ao extrato real, este variou de 2,6 °Brix (sul) até 4,5 °Brix (sudeste, norte/centro-oeste e nordeste), com média de $3,9 \pm 0,3$ °Brix a $4,0 \pm 0,2$ °Brix. Entretanto, 8,7 % das amostras apresentaram resultados fora da faixa (3,7 a 4,8 °Brix) citada por Compton (1978) para esse parâmetro. Desses resultados, somente dois mostraram-se

abaixo de 3,5 °Brix (S 22 = 2,6 °Brix e SE 21 = 2,8 °Brix). Os valores de extrato aparente variaram de 1,3 °Brix (SE 21) até 2,9 °Brix (SE 18, SE 42 e NE 13).

Tabela 30: Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes da região Sudeste.

cerveja	teor alc. (°GL) declarado	teor alc. (°GL) analisado	extrato real (°Brix)	extrato aparente (°Brix)	pH	acidez total (%)	cor (EBC)	turbidez (EBC)	amargor (U.A.)
SE 01	4,7	4,5	4,2	2,6	4,1	0,17	5,2	0,6	11
SE 02	4,9	4,5	4,2	2,6	4,0	0,15	5,3	0,7	11
SE 03	4,8	4,5	4,4	2,7	4,1	0,19	5,2	0,6	11
SE 04	4,5	4,2	4,0	2,5	4,4	0,16	5,6	0,6	9
SE 05	4,5	4,7	4,3	2,6	4,3	0,17	5,5	0,4	10
SE 06	4,5	4,4	3,9	2,3	4,1	0,26	5,9	0,6	8
SE 07	4,7	4,2	4,1	2,5	4,4	0,25	5,0	0,8	11
SE 08	4,7	4,5	3,9	2,2	4,1	0,16	6,1	1,0	11
SE 09	4,4	4,6	4,1	2,5	4,1	0,24	5,8	0,9	9
SE 10	4,7	4,5	4,0	2,4	4,2	0,26	5,8	1,3	11
SE 11	4,7	4,4	4,0	2,4	4,3	0,20	5,4	1,5	11
SE 12	4,8	4,8	3,6	1,9	4,1	0,18	5,3	0,6	12
SE 13	4,7	4,5	3,8	2,2	4,3	0,14	5,1	0,6	11
SE 14	4,9	4,4	3,8	2,1	4,1	0,14	5,7	0,6	9
SE 15	5,0	4,8	3,7	1,9	4,0	0,17	6,1	0,6	12
SE 16	4,8	4,5	4,0	2,4	4,2	0,25	7,9	1,1	12
SE 17	5,0	4,9	3,6	1,8	4,3	0,20	7,6	0,7	17
SE 18	4,8	4,5	4,5	2,9	4,2	0,13	10,2	0,8	11
SE 19	4,5	4,1	3,9	2,4	4,2	0,15	6,2	0,4	10
SE 20	4,5	4,6	3,9	2,3	4,2	0,24	5,9	0,4	9
SE 21	4,6	4,0	2,8	1,3	4,3	0,13	6,7	0,5	11
SE 22	4,6	4,6	3,9	2,2	4,0	0,15	8,6	0,4	9
SE 23	4,8	4,6	3,8	2,1	4,1	0,15	6,1	0,6	10
SE 24	4,7	4,6	3,8	2,1	4,2	0,15	5,5	0,7	10
SE 25	4,9	4,4	3,6	1,9	4,1	0,23	6,3	0,7	11
SE 26	5,0	4,7	3,4	1,8	4,1	0,15	6,1	0,5	13
SE 27	4,5	4,3	4,0	2,5	4,3	0,14	6,7	1,1	10
SE 28	4,9	4,5	4,1	2,5	4,3	0,14	6,0	1,1	10
SE 29	4,5	4,4	4,2	2,5	4,2	0,14	6,2	1,7	11
SE 30	5,0	4,4	4,4	2,8	4,1	0,17	6,2	0,5	12
SE 31	4,9	4,5	3,8	2,1	4,1	0,14	6,8	0,8	9
SE 32	4,7	4,5	3,9	2,3	4,1	0,15	5,7	0,5	10
SE 33	5,2	4,9	3,5	1,7	3,9	0,15	6,2	0,7	12
SE 34	4,8	4,6	4,0	2,3	4,1	0,17	6,3	0,7	9
SE 35	5,0	4,6	4,3	2,6	4,1	0,15	6,2	0,7	9
SE 36	4,9	4,4	4,0	2,4	4,1	0,18	5,7	0,7	10
SE 37	4,8	4,6	3,9	2,3	4,1	0,17	5,4	0,7	12
SE 38	4,7	4,5	4,0	2,3	4,0	0,17	4,9	0,5	10
SE 39	3,5	4,6	4,1	2,4	4,3	0,16	5,0	0,5	12
SE 40	4,7	4,4	4,0	2,3	4,2	0,21	5,5	0,7	9
SE 41	4,5	3,9	3,9	2,5	4,0	0,14	6,0	0,7	9
SE 42	4,5	4,1	4,4	2,9	4,1	0,15	4,6	1,6	9
SE 43	4,7	4,8	4,2	2,4	4,1	0,18	5,2	1,2	14

continuação

SE 44	4,5	4,1	3,9	2,4	4,2	0,16	5,2	0,5	10
SE 45	4,5	4,1	4,0	2,4	4,2	0,15	5,5	0,6	10
SE 46	4,5	4,3	3,5	1,9	4,2	0,15	6,2	0,9	10
SE 47	4,7	4,6	4,0	2,5	3,9	0,14	6,2	0,4	14
SE 48	4,6	4,3	3,8	2,2	4,2	0,15	6,1	0,9	10
SE 49	4,8	4,6	3,6	1,9	4,4	0,24	8,1	0,5	16
SE 50	4,6	4,3	3,8	2,2	4,2	0,15	5,8	0,7	9
SE 51	5,0	4,7	4,0	2,3	4,6	0,16	5,1	0,8	11
SE 52	4,7	4,4	3,8	2,2	4,3	0,14	5,1	0,5	9
SE 53	4,8	4,5	3,7	2,1	4,1	0,13	4,6	0,9	10
SE 54	4,8	4,4	3,9	2,3	4,1	0,11	5,1	0,7	10
SE 55	4,8	4,6	3,8	2,1	4,2	0,11	7,4	1,8	12
SE 56	4,7	3,9	3,6	2,2	4,2	0,26	5,7	0,9	44
SE 57	4,7	4,2	3,8	2,2	4,1	0,14	6,9	1,3	38
SE 58	4,7	4,4	4,0	2,4	4,1	0,17	6,1	0,8	11
SE 59	4,4	4,0	4,0	2,5	4,0	0,14	5,2	0,8	9
SE 60	4,7	4,5	4,1	2,4	4,1	0,15	5,3	0,9	12
SE 61	4,7	4,6	3,8	2,1	4,1	0,16	5,5	0,5	10
SE 62	4,9	4,5	3,8	2,2	4,1	0,16	6,0	0,6	10
SE 63	4,8	4,6	3,8	2,1	4,0	0,18	6,0	0,5	11
SE 64	4,5	4,2	4,0	2,5	4,2	0,15	6,1	0,4	10
SE 65	4,7	4,4	4,2	2,5	4,1	0,14	5,8	0,3	14
SE 66	4,2	4,0	3,7	2,2	4,2	0,15	5,4	0,4	11
SE 67	4,3	3,7	3,6	2,1	4,3	0,11	6,6	0,2	16
SE 68	4,6	4,1	3,9	2,4	4,1	0,14	6,0	0,4	11
SE 69	4,6	4,3	3,9	2,4	4,1	0,15	5,7	0,3	12
SE 70	4,8	4,7	3,9	2,2	4,3	0,19	7,1	0,5	15
SE 71	4,6	4,8	4,3	2,6	3,8	0,24	6,7	1,0	7
Média	4,7	4,4	3,9	2,3	4,2	0,17	6,0	0,7	11,7
	± 0,2	± 0,3	± 0,3	± 0,3	± 0,13	± 0,04	± 0,9	± 0,3	± 5,4

Os valores de pH das cervejas variaram entre 3,8 (SE 71, NC 07, NE 05, NE 06, NE 07 e NE 15) e 4,6 (SE 51), ficando todas as amostras dentro da faixa de 3,8 a 4,7 proposta por Compton (1978) para cervejas de baixa fermentação. A acidez total variou de 0,11 % (SE 54, SE 55 e SE 67) a 0,30 % (S 09 e NC 11), o que significa que o limite superior ficou além da faixa citada por Compton (1978), que é de 0,09 a 0,15 %. Esses resultados sugerem a possibilidade de ocorrência de problema de ordem microbiológica durante a fermentação.

A cor das cervejas variou de 4,5 EBC (NC 09, NE 19 e NE 21) a 11,3 EBC (S 08), sendo que o valor médio variou entre 5,7 EBC (norte/ centro-oeste) e 6,2 EBC (sul). Essa diferença não é representativa, e mostra preferência do consumidor brasileiro por cervejas mais claras, característica de cerveja tipo Pilsen. A turbidez variou entre 0,2 EBC

(SE 67) e 4,5 (S 27), porém, além desta última, somente mais duas amostras (S 34 e NE 24) apresentaram resultados superiores a 3 EBC.

Tabela 31: Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes das regiões Norte e Centro-Oeste.

cerveja	teor alc. (°GL) declarado	teor alc. (°GL) analisado	extrato real (°Brix)	extrato aparente (°Brix)	pH	acidez total (%)	cor (EBC)	turbidez (EBC)	amargor (U.A.)
NC 01	4,7	4,6	3,9	2,2	4,1	0,17	4,9	0,7	8
NC 02	4,9	4,7	3,8	2,1	4,1	0,17	5,0	0,6	9
NC 03	4,8	4,6	3,9	2,2	4,0	0,16	4,6	0,7	9
NC 04	4,5	4,1	4,1	2,5	4,2	0,14	5,3	0,4	11
NC 05	4,6	4,4	4,2	2,7	4,2	0,15	5,8	0,4	13
NC 06	4,7	4,6	3,9	2,3	3,9	0,17	7,0	1,0	9
NC 07	4,8	4,7	4,0	2,4	3,8	0,14	6,8	0,9	14
NC 08	4,0	4,1	4,3	2,8	3,9	0,16	5,2	0,6	10
NC 09	4,7	4,4	4,0	2,4	4,0	0,14	4,5	0,7	8
NC 10	4,8	4,7	3,8	2,1	3,9	0,16	5,2	0,6	9
NC 11	4,9	4,6	3,7	2,1	4,0	0,30	5,3	0,4	8
NC 12	4,7	4,4	4,0	2,5	4,3	0,26	5,2	0,7	6
NC 13	4,7	4,4	4,2	2,6	4,3	0,18	5,6	0,8	10
NC 14	4,4	4,1	4,2	2,7	4,3	0,19	5,1	0,6	9
NC 15	4,7	4,6	3,9	2,3	4,1	0,21	6,6	0,8	10
NC 16	4,8	4,5	4,1	2,4	4,2	0,13	6,6	0,7	10
NC 17	4,9	4,6	3,9	2,2	4,1	0,14	5,8	0,6	11
NC 18	5,1	4,5	4,3	2,7	4,1	0,23	6,2	0,5	10
NC 19	5,3	4,9	4,5	2,8	4,3	0,20	7,0	0,4	13
Média	4,7	4,5	4,0	2,4	4,1	0,18	5,7	0,6	9,8
	± 0,3	± 0,2	± 0,2	± 0,2	± 0,15	± 0,04	± 0,8	± 0,2	± 2,0

Com relação ao amargor, as cervejas variaram de 6 U.A. (NC 12) a 44 U.A. (SE 56). As cervejas SE 56 e SE 57 apresentaram valores de amargor, respectivamente, de 44 e 38 U.A., indicando haver algum problema nestas amostras, já que Compton (1978) sugere a faixa de 10 a 23 U.A. Nos últimos anos, o amargor das cervejas tem diminuído e parece ser uma forte tendência de mercado, em nível nacional. Uma das razões para isso é o aumento do público feminino dentre os consumidores da bebida. Isso explicaria o fato do aparecimento de cervejas com valores inferiores a 10 U.A., portanto, abaixo do limite inferior proposto com Compton (1978).

Tabela 32: Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen, provenientes da região Nordeste.

cerveja	teor alc. (°GL) declarado	teor alc. (°GL) analisado	extrato real (°Brix)	extrato aparente (°Brix)	pH	acidez total (%)	cor (EBC)	turbidez (EBC)	amargor (U.A.)
NE 01	4,7	4,6	4,1	2,4	4,1	0,15	5,5	0,6	13
NE 02	4,9	4,9	3,5	1,7	4,1	0,21	5,7	0,7	10
NE 03	4,8	4,5	3,7	2,0	4,1	0,15	5,8	0,6	12
NE 04	5,0	4,8	4,2	2,5	4,2	0,26	6,3	0,5	14
NE 05	4,7	4,5	4,2	2,5	3,8	0,21	6,1	0,6	12
NE 06	4,9	4,6	4,3	2,7	3,8	0,21	6,0	0,7	10
NE 07	4,8	4,7	4,1	2,4	3,8	0,26	6,0	0,6	11
NE 08	4,7	4,5	3,6	1,9	4,0	0,19	6,0	0,6	14
NE 09	4,8	4,7	3,8	2,2	4,0	0,23	6,7	0,6	16
NE 10	4,9	4,6	3,9	2,3	4,0	0,15	6,1	2,0	12
NE 11	4,7	4,5	4,0	2,4	4,2	0,22	5,8	1,0	10
NE 12	4,7	4,5	3,9	2,3	4,2	0,18	6,3	1,5	10
NE 13	4,4	4,2	4,5	2,9	4,2	0,14	5,8	1,7	11
NE 14	4,7	4,5	3,8	2,2	3,9	0,18	5,7	0,7	12
NE 15	4,8	4,6	4,0	2,3	3,8	0,21	5,9	0,7	9
NE 16	4,9	4,6	3,8	2,1	3,9	0,18	5,6	0,5	12
NE 17	4,6	4,2	3,9	2,4	4,2	0,21	5,2	0,4	10
NE 18	4,8	4,5	3,8	2,1	4,2	0,23	6,3	0,5	13
NE 19	4,5	4,4	3,7	2,1	4,1	0,16	4,5	0,4	11
NE 20	4,7	4,4	3,9	2,2	4,1	0,15	5,0	0,6	10
NE 21	4,9	4,5	3,9	2,2	4,1	0,15	4,5	0,5	9
NE 22	4,8	4,6	3,9	2,2	4,1	0,16	4,9	0,6	11
NE 23	4,7	4,5	4,0	2,4	4,1	0,25	6,1	1,2	10
NE 24	4,4	4,4	3,8	2,1	4,0	0,29	6,1	3,9	8
NE 25	4,7	4,3	4,2	2,6	4,2	0,17	5,7	1,6	11
NE 26	4,5	4,1	4,0	2,4	4,0	0,18	6,4	1,0	9
NE 27	4,8	4,6	4,1	2,4	4,0	0,23	6,6	1,5	10
NE 28	4,9	4,7	3,9	2,2	4,0	0,20	7,1	1,2	10
NE 29	4,7	4,6	3,8	2,2	4,1	0,16	7,5	1,5	10
Média	4,7	4,5	3,9	2,3	4,0	0,20	5,9	1,0	11,0
	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$	$\pm 0,13$	$\pm 0,04$	$\pm 0,7$	$\pm 0,7$	$\pm 1,8$

As cervejas extras da Tabela 33 apresentaram teor alcoólico médio de $5,1 \pm 0,3$ °GL, característico deste tipo de cerveja. Uma das amostras obteve valor de 4,9 °GL, aquém do limite inferior, porém dentro da tolerância de 0,5 °GL estipulada pela legislação (BRASIL, 2001). O extrato real oscilou entre 4,3 e 4,8 °Brix com média de $4,6 \pm 0,2$ °Brix e o extrato aparente oscilou entre 2,3 e 3,1 °Brix.

As cervejas extras apresentaram pH 3,9 a 4,3 e os valores de acidez total variaram de 0,15 a 0,24 %, com média de 0,18 %.

Tabela 33: Análises físico-químicas de cervejas tipo Pilsen extra.

cerveja	teor alc. (°GL) declarado	teor alc. (°GL) encontrado	extrato real (°Brix)	extrato aparente (°Brix)	pH	acidez total (%)	cor (EBC)	turbidez (EBC)	amargor (U.A.)
EX 01	5,5	5,1	4,5	2,3	4,3	0,15	6,2	0,7	11
EX 02	5,0	5,3	4,7	2,9	4,3	0,16	9,0	1,9	18
EX 03	5,5	5,5	4,5	2,6	3,9	0,19	8,1	0,5	12
EX 04	5,0	4,9	4,7	3,0	4,1	0,24	8,7	1,1	10
EX 05	5,5	5,3	4,6	2,6	4,0	0,18	6,8	0,7	13
EX 06	5,4	5,1	4,4	2,4	4,1	0,16	10,3	0,4	19
EX 07	5,5	5,2	4,3	2,4	4,3	0,17	6,4	0,7	19
EX 08	5,0	4,7	4,8	3,1	4,1	0,18	12,7	6,7	10
Média	5,3 $\pm 0,3$	5,1 $\pm 0,3$	4,6 $\pm 0,2$	2,7 $\pm 0,3$	4,1 $\pm 0,15$	0,18 $\pm 0,03$	8,5 $\pm 2,2$	1,6 $\pm 2,1$	14,0 $\pm 4,0$

A coloração desse grupo de cervejas variou de 6,2 a 12,7 EBC, com média de $8,5 \pm 2,2$ EBC. Todas as cervejas com menos de 20 EBC são classificadas como claras (BRASIL, 1997). A cerveja que apresentou coloração mais intensa (EX 08) também apresentou o maior valor de turbidez dentre todas as cervejas analisadas, enquanto que a menor turbidez (0,4 EBC) foi atingida pela cerveja EX 04. O amargor das cervejas extras variou em 10 a 19 U.A., com média de 14 U.A.

4.3.3. Análise visual do rótulo

Sobre as embalagens das amostras recebidas para serem analisadas, 76 (47,2 %) delas eram latas de alumínio, 4 (2,5 %) latas de aço, 34 (21,1 %) garrafas descartáveis de vidro, tipo *long neck* com volume variável, 45 (28,0 %) garrafas retornáveis de vidro, próprias para o acondicionamento de cervejas e 2 (1,2 %) embalagem tipo PET.

Através da análise visual da rotulagem das cervejas Pilsen comerciais constatou-se que todas as amostras apresentam o nome e o endereço do fabricante, bem como o número do registro do produto no MAPA, conteúdo e a graduação alcoólica, conforme BRASIL (1997).

Todas as amostras também identificam seus lotes, sendo que algumas delas caracterizam-no através do prazo de validade. A data de validade só não aparece em duas amostras, as quais indicam a data de fabricação e a expressão “validade 6 meses”.

Frases de advertência, como “aprecie com moderação” ou “beba com moderação”, aparecem em 149 amostras (92,5 %), “evite o consumo excessivo de álcool” em 7 amostras (4,4 %), “beba com responsabilidade” em uma amostra (0,6 %) e “o melhor sabor está na moderação” em uma amostra (0,6 %). Outras expressões como “destina-se ao público adulto” aparece em quatro amostras (2,5 %), “produto para maiores de 18 anos” em 107 amostras (66,5 %) e “contém glúten” em 105 amostras (65,2 %). A expressão “Indústria Brasileira” ou “Ind. Bras.” não consta em cinco amostras (3,1 %), sendo que em três delas aparece a expressão “*imported from Brazil*”. Por se tratarem de cervejas exclusivas para exportação, estas três amostras (1,9 %) também não apresentam frase de advertência.

A relação dos ingredientes declarados no rótulo (BRASIL, 1997) consta na Tabela 34. Duas amostras (1,2 %) destinadas ao mercado externo não declaram ingrediente algum. Uma amostra (0,6 %) declara água mineral e outra (0,6 %) declara malte claro em sua composição.

Tabela 34 – Ingredientes declarados nos rótulos das amostras de cervejas.

Ingrediente	amostras
água	159 (98,8 %)
malte	159 (98,8 %)
lúpulo	159 (98,8 %)
cereais não maltados	139 (86,3 %)
carboidratos	124 (77,0 %)
carboidratos transformados	21 (13,0 %)
gás carbônico	24 (14,9 %)
levedura ou fermento	3 (1,9 %)
acidulante INS 270* [ácido láctico (L-,D-,LD-)]	12 (7,5 %)
antioxidante INS 300* [ácido ascórbico]	8 (5,0 %)
antioxidante INS 315* [ácido eritórbito, ácido isoascórbico]	5 (3,1 %)
antioxidante INS 316* [eritorbato de sódio, isoascorbato de sódio]	134 (83,2 %)
antioxidante INS 316 e INS 224* [metabissulfito de potássio]	7 (4,3 %)
não declaram antioxidante	7 (4,3 %)
estabilizante INS 405* [alginato de propileno glicol]	148 (91,9 %)
não declaram estabilizante	13 (8,1 %)

* Nomenclatura de acordo com o Sistema Internacional de Numeração de aditivos alimentares (ANVISA, 2001)

4.3.4. Estudo de correlação entre percentual de malte e preço da cerveja

As Tabelas 35 e 37 mostram os preços de cervejas coletados em quatro supermercados na cidade de São Paulo, para *long neck* e lata, respectivamente. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$, calculados a partir dos isótopos de carbono, utilizados aqui foram os valores médios obtidos para a reta de calibração elaborada com malte e xarope de maltose de milho (h_{HMCS}), considerada a matéria prima mais empregada pelas empresas, para efeito deste trabalho.

Tabela 35: Preços de cervejas em *long neck* praticados na cidade de São Paulo e o percentual de malte encontrado para cada amostra.

amostra	estabelecimento (R\$)				média (R\$)	% malte
	1	2	3	4		
SE 25	0,97	0,95	1,14	0,96	1,01	70,5
SE 68	0,88	0,84	0,87	0,83	0,86	71,2
SE 20	1,29	-	1,60	-	1,45	71,3
SE 70	1,51	1,49	1,35	1,45	1,45	100,0
SE 30	1,34	1,39	1,55	1,34	1,41	64,8
SE 23	1,04	1,00	1,06	1,07	1,04	62,9
SE 40	0,88	0,80	0,78	0,75	0,80	67,0
SE 45	0,86	-	0,82	0,81	0,83	68,4
S 08	3,15	-	2,79	3,18	3,04	100,0
SE 17	1,40	1,38	1,51	1,38	1,42	100,0
SE 44	0,95	0,92	0,93	0,98	0,95	67,8
SE 64	0,90	0,90	0,91	0,95	0,92	66,4
SE 65	1,25	1,20	1,25	1,27	1,24	48,7
SE 22	1,55	1,49	1,65	1,52	1,55	70,0
SE 58	0,93	0,85	0,86	0,91	0,89	77,5
SE 60	0,91	-	0,97	-	0,94	76,3
SE 24	1,06	1,03	1,12	1,06	1,07	67,7
SE 33	1,53	1,58	1,54	1,38	1,51	59,8
SE 67	1,99	1,95	2,01	1,78	1,93	45,6

Através de regressão linear (Tabela 36 e 38), buscou-se verificar a possível relação existente entre as médias dos preços e o percentual de malte para cada cerveja (Figuras 8 e 9).

Tabela 36: Regressão linear realizada com os preços médios (R\$) em função do percentual do malte das cervejas embaladas em *long neck*, ao nível de 90 % de confiança.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,31453
R-Quadrado	0,09893
R-quadrado ajustado	0,04593
Erro padrão	0,5171
Observações	19

ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	0,49908	0,49908	1,86647	0,18968
Resíduo	17	4,5457	0,26739		
Total	18	5,04478			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>Inferior 90,0%</i>	<i>Superior 90,0%</i>
Interseção	0,48379	0,59333	0,81537	0,42614	-0,5484	1,51596
Variável X 1	0,01113	0,00815	1,36619	0,18968	-0,003	0,0253

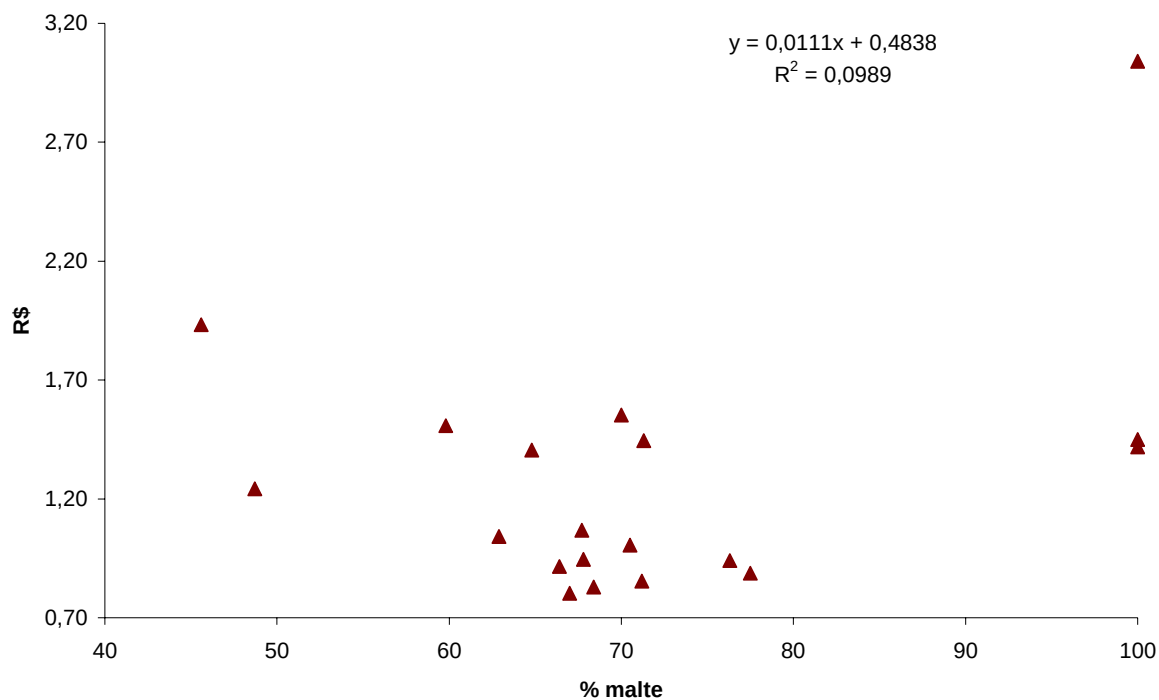


Figura 8: Correlação entre o percentual de malte e o preço (R\$) de cervejas embaladas em garrafas *long neck*, ao nível de 90 % de confiança.

Tabela 37: Preços de cervejas em lata praticados na cidade de São Paulo e o percentual de malte encontrado para cada amostra.

amostra	estabelecimento (R\$)				média (R\$)	% malte
	1	2	3	4		
SE 25	0,98	0,93	0,92	0,92	0,94	70,5
SE 48	0,80	0,84	0,81	0,82	0,82	74,8
SE 49	0,97	-	1,07	1,03	1,02	100,0
SE 30	1,29	1,37	1,29	1,26	1,30	64,8
SE 23	1,01	0,98	0,98	1,00	0,99	62,8
SE 40	0,84	0,76	0,78	-	0,79	67,0
SE 52	-	0,79	0,71	-	0,75	77,7
SE 45	0,79	0,85	0,82	0,78	0,81	68,4
SE 59	0,79	-	-	-	0,79	54,2
SE 17	1,38	1,42	1,44	1,38	1,41	100,0
SE 44	0,91	0,93	0,94	0,91	0,92	67,8
SE 46	0,88	0,92	0,88	0,88	0,89	72,5
SE 47	1,20	1,24	1,21	1,24	1,22	74,8
SE 54	0,66	0,67	0,67	0,66	0,67	46,1
SE 22	1,45	1,47	1,57	1,42	1,48	70,0
SE 58	0,85	0,85	0,84	0,85	0,85	77,5
SE 60	0,95	-	0,95	-	0,95	76,7
SE 26	0,86	0,94	0,91	0,87	0,90	66,3
SE 24	1,05	1,04	1,02	1,04	1,04	67,7

Tabela 38: Regressão linear realizada com os preços médios (R\$) em função do percentual do malte das cervejas embaladas em lata, ao nível de 90 % de confiança.

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,413150998
R-Quadrado	0,170693747
R-quadrado ajustado	0,121911026
Erro padrão	0,211055538
Observações	19

ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significação</i>
Regressão	1	0,15586	0,15586	3,49906	0,07872
Resíduo	17	0,75726	0,04454		
Total	18	0,91312			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>Inferior 90,0%</i>	<i>Superior 90,0%</i>
Interseção	0,450797268	0,2845	1,58451	0,1315	-0,0441	0,94572
Variável X 1	0,00732864	0,00392	1,87058	0,07872	0,00051	0,01414

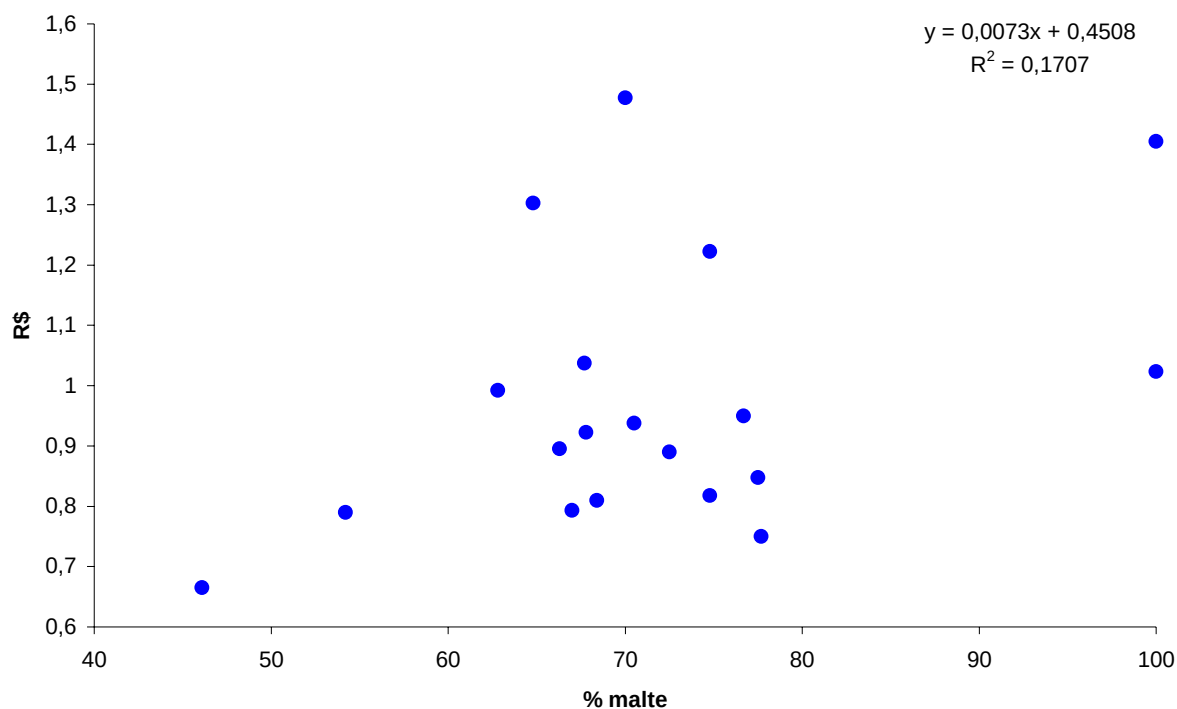


Figura 9: Correlação entre o percentual de malte e o preço (R\$) de cervejas embaladas em lata, ao nível de 90 % de confiança.

Observando-se os valores encontrados pelas regressões e pela respectivas figuras, nota-se que não há interferência do percentual de malte na composição do preço da bebida ao nível de 90 % de confiança para ambas as embalagens, haja vista o R^2 igual a 0,09893 para cervejas em garrafas *long neck* e 0,17069 para cervejas enlatadas. Brooks et al. (2002) encontraram valor de R^2 para cervejas brasileiras igual a 0,23 e de 0,38 para cervejas americanas, enquanto que Oliveira et. al (2002) compararam o $\delta^{13}\text{C}$ das diferentes marcas de cervejas com seus preços.

O malte representa cerca de 10 % do custo industrial do produto (OLIVEIRA, 1996), e sua influência acaba ainda mais reduzida no preço do varejo, em função dos intermediários. Brooks et al. (2002) afirmam que os preços das cervejas são altamente influenciados por custos de processamento, embalagem, *marketing*, entre outros. Segundo os autores, as cervejas importadas são mais caras devido a fatores como transporte e taxas de importação. As cervejas brasileiras possuem uma elevada carga tributável, superior a 30 % do preço da cerveja (SINDICERV 2005b).

Além desses fatores com grande influência na formação do preço, a mão-de-obra, o transporte e a própria marca apresentam sua contribuição no preço final. Com relação ao fator marca, Castanheira e Tavares (2005) listaram as 15 marcas brasileiras mais valiosas do mercado (indústria e serviços), dentre as quais, três marcas são de cervejas. Segundo os autores, a mais valiosa delas equivale a US\$ 562 milhões.

Em função do exposto, pode-se afirmar que a influência do malte na formação do preço do varejo é nula.

5. CONCLUSÕES

Os dados obtidos mostraram que os sinais isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) para cevada e malte são semelhantes e indicam que seus fermentados não se diferenciam entre si, através destes isótopos, impossibilitando a verificação da ocorrência de cevada enquanto adjunto em cervejas. O lúpulo não interferiu nos sinais dos mostos e frações de fermentados de malte.

A partir das análises do $\delta^{13}\text{C}$, pode-se encontrar o PMP de malte para cervejas elaboradas com malte e adjunto oriundo de planta de ciclo fotossintético C_4 . Porém, os resultados obtidos para algumas cervejas colocaram-nas uma faixa de incerteza em relação à legislação, quanto ao PMP de malte.

A partir das análises de $\delta^{15}\text{N}$, pode-se calcular o PMP de malte num fermentado contendo arroz (planta ciclo fotossintético C_3 , semelhante à cevada) como adjunto cervejeiro.

A metodologia aqui apresentada funciona apenas para cervejas do tipo Pilsen e Pilsen Extra, desde que fabricadas apenas com malte e adjuntos derivados de plantas do ciclo fotossintético C_4 , ou malte e arroz; ou seja, caso ocorram malte, arroz e derivados de

C₄ de forma associada (três fontes, sendo duas delas C₃) numa mesma cerveja, os resultados poderão ser prejudicados, haja vista que neste trabalho foram elaborados somente padrões oriundos de duas fontes de carbono e nitrogênio.

Do total das cervejas analisadas (161 amostras provenientes de dezessete estados), 91,3 % utilizam malte e adjuntos derivados de planta de ciclo fotossintético C₄ em sua formulação, 4,3 % delas apresentam arroz como adjunto cervejeiro, 4,3 % das amostras são cervejas “puro malte”. Deste total, 28,6 % estão na faixa de incerteza quanto ao percentual de malte, 3,7 % estão adulteradas com menos de 50 % de malte em sua formulação, seja por adjuntos derivados de planta de ciclo fotossintético C₄ ou arroz (C₃).

Em relação às análises físico-químicas das cervejas comerciais, 4,3 % apresentaram diferença superior a 0,5 % entre o teor alcoólico analisado e o declarado no rótulo. O mercado brasileiro mostra uma tendência por cervejas mais claras, pouco turvas e teor de amargor reduzido, haja vista os resultados médios serem semelhantes nos diferentes estados.

Os rótulos das cervejas nacionais trazem as declarações exigidas por lei, salvo exceções, que ficam restritas, principalmente, às cervejas destinadas à exportação.

O estudo de correlação entre preço da cerveja praticado no varejo e o percentual de malte do produto mostrou ser nula, a influência desta matéria-prima.

O desenvolvimento teórico-prático da aplicação de isótopos de carbono $\delta^{13}\text{C}$ e de nitrogênio $\delta^{15}\text{N}$ mostrou-se aplicável para a quantificação do percentual de malte e adjuntos (independente de sua origem) presentes em cervejas tipo Pilsen.

Teoricamente, a metodologia apresentada poderia funcionar com outros tipos de cervejas, como as sem álcool, Bock, Ale, entre outras. Além disso, abre caminho para estudos com outras matérias-primas, também classificadas como C₃, como o trigo por exemplo, além de possibilidade de estudos com outros isótopos estáveis.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ⁶

ACNIELSEN. Imprensa. Disponível em:

<<http://www.acnielsen.com.br/movimentacao/imprensa.htm>>. Acesso em: 18 mar. 2005.

ALMEIDA E SILVA, J.B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W.G. (Coord.) **Tecnologia de bebidas**: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado. São Paulo: Edgard Blücher, 2005, cap. 15, p. 347-382.

ALVES, F. Indústria carece de transparência. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 12, p. 3, 2002.

AMERICAN Society of Brewing Chemists. **Methods of analysis of the American Society of Brewing Chemists**. Madison, 1958. 209p.

⁶ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023**: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR10520**: informação e documentação – citações em documentos – apresentação. Rio de Janeiro, 2002. 7 p.

ANVISA. **Sistema Internacional de Numeração de aditivos alimentares**. Atualizado em 28 nov. 2001. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivo.htm>>. Acesso em 07 dez. 2005.

BANZON, J.; FULMER, E.I.; UNDERKOFER, L.A. Fermentative utilization of cassava in the production of ethanol. p. 219-235, 1948.

BARRIE, A.; PROSSER, S. Automated analysis of light element stable isotopes by isotope ratio mass spectrometry. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S-I. (Ed) **Mass Spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker Inc. 1996. cap. 1, p. 1-46.

BLACKBURN, T.H.; KNOWLES, R. Introduction. In: KNOWLES, R.; BLACKBURN, T.H. (ed.). **Nitrogen Isotope Techniques**. San Diego: Academic Press, 1993, cap. 1, p. 1-10.

BORGES, V.S. **Dia de campo na Malteria do Vale incentiva a cultura de cevada cervejeira**. 09 mar. 2004. Disponível em: <http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2004/marco/bn.2004-11-25.7366782502/mostra_noticia>. Acesso em: 15 out. 2005.

BOUTTON, T.W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. sample preparation and mass spectrometric analysis. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. **Carbon isotope techniques**. San Diego: Academic Press, 1991. cap. 10, p. 155-171.

BOUTTON, T.W. Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S-I. (Ed) **Mass Spectrometry of soils**. New York: Marcel Dekker Inc. 1996. cap. 2, p. 47-82.

BRASIL. Decreto n. 2.314, de 04 de setembro de 1997. 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. **Boletim IOB**, n. 38, p. 11-30, 1997.

BRASIL. Metodologia de análise da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em produtos e subprodutos das plantas do ciclo fotossintético C_3 e C_4 . Portaria nº 30. P. 18-19. Seção 1. **Diário Oficial da União**, 14 de setembro de 2000.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 054**, de 5 de novembro de 2001. Aprovou o Regulamento Técnico MERCOSUL de Produtos de Cervejaria. Disponível em:
<<http://www.dfasp.gov.br/siv/legislacao/20011105IN054.doc>>. Acesso em: 1 set. 2005.

BRASIL Brau 2005. **Engarrafador Moderno**. n. 134, p. 34-40, 2005.

BROOKS, J.R., et. al. Heavy and light beer: a carbon isotope approach to detect C_4 carbon in beer of different origins, styles and prices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, D.C., v.50, n.22, p.6413-6418, 2002.

BUSSAB, W.O. **Análise de variância e de regressão**: uma introdução. São Paulo: Atual, 1999. 147 p.

CARRO, O.; HILLAIRES-MARCEL, C.; GAGNON, M. Sugars and sugar products: detection of adulterated maple products by stable carbon isotope ratio. **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, Gaithersburg, v.63, n.4, p.840-844, 1980.

CASTANHEIRA, J.; TAVARES, F. Marcas que brilham. **Isto é Dinheiro**, n.410, 20 jul. 2005. Disponível em:
<http://www.terra.com.br/istoedinheiro/410/negocios/valor_marca.htm>.
Acesso em 25 jul. 2005.

CATI. **Cevada cervejeira em São Paulo**. Disponível em:
<http://www.cati.sp.gov.br/novacati/tecnologias/producao_agricola/cevada/foldercevada.htm>
Acesso em: 15 out. 2005.

CERVEJA falsa na Baixada. **Jornal do Brasil**, Rio de Janeiro, 28 maio 2004. Disponível em: <<http://www.unafisco.org.br/noticias/clipping/2004/SRF%20280504.doc>>. Acesso em: 25 nov. 2005.

COLL, J.B.; RODRIGO, G.N.; GARCÍA, B.S.; TAMÉS, R.S. **Fisiologia vegetal**. Madri: Pirâmide, 1980. 750 p.

COMBINACIÓN exitosa. **Brewing and Beverage Industry Español**. n.3, p.40-47, 2005.

COMPTON, J. Beer quality and taste methodology. In: BRODERICK, H.M. (Ed.) **The practical brewer: a manual for the brewing industry**. 2.ed. Madison: Impressions, 1978. cap.15, p.288-308.

CONTREIRAS, J. **Fisiologia e bioquímica da respiração das plantas superiores**. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1992. 312 p.

CORN PRODUCTS BRASIL. Espaço Mestre Cervejeiro. **Indústria de Bebidas**. n. 19, p. 20, 2005.

CORREIA, E.C.O. et. al. Produção de cerveja a partir de milho (*Zea mays*). In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 15. Recife, 2005. Anais ... Recife: Universidade Federal de Pernambuco, Associação Brasileira de Engenharia Química, 2005. 1 CD-ROM.

COSTA JÚNIOR, P.J. Adendo especial: comentários a dispositivos da Lei n. 8.137, de 27 de dezembro de 1990. In: OLIVEIRA, J. (Coord.) **Comentários ao código de proteção do consumidor**. São Paulo: Saraiva, 1991. p. 383-403.

DEBIAN, R. Polícia apreende 305 caixas de cerveja falsificada em Uberlândia. **Minas Gerais**. 17 jun. 2005. Disponível em:

<http://www.betim.org/jornal_noticias.asp?codnoticia=1474>. Acesso em: 16 nov. 2005.

DEPÓSITOS de falsificação de cervejas. **Dia a Dia**. 28 maio 2004. Disponível em: <<http://www.noticias.cardiol.br/listanotsql.asp?P1=143038>>. Acesso em: 16 nov. 2005.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, 2000. 138 p. (Apostila).

DUCATTI, C. **Diluição isotópica**: várias fontes primárias e um produto final. Botucatu: Centro de Isótopos Estáveis Ambientais, 2002. 15 p. (Apostila).

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em matéria orgânica e das razões $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.51, n.2, p. 275-286, 1979.

ENGLMANN, J.; MIEDANER, H. 2005. Métodos de producción de cerveza: materias primas y aditivos de uso corriente. **Brewing and Beverage Industry Español**. n.3, p.10-16, 2005.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica – EBC**. 4.ed. Zurique: Brauerei – und Getränke – Rundschau, 1987. 271 p.

FARQUHAR, G.D.; O'LEARY, M.H.; BERRY, J.A. On the relationship between carbon isotope discrimination and intercellular carbon dioxide concentration in leaves. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v.9, p.121-137, 1982.

FARQUHAR, G.D. On the nature of carbon isotope discrimination in C_4 species. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v.10, p.205-226, 1983.

FARQUHAR, G.D.; EHRLINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.40, p.503-537, 1989.

FISPAL. Indústria de cerveja compra cevada no cerrado. **Gazeta Mercantil**. 21 jul. 2004. Disponível em: <<http://www.fispal.com/core.php?r=110&m=112&t=640>>. Acesso em: 15 out. 2005.

FREIRE, G. Polícia apreende cerveja falsificada em Goiânia. **O Popular**, Goiânia, s/d. Disponível em: <<http://geraldfreire.uol.com.br/conteudoPrimeirapagina0708.4.htm>>. Acesso em: 16 nov. 2005.

HARDWICK, W.A. **Handbook of brewing**. New York: Marcel Dekker, 1995. 714p.

HAYNES, R.J. Uptake and assimilation of mineral nitrogen by plants. In: HAYNES, R.J. **Mineral nitrogen in the plant-soil system**. Madison: Academic Press. cap.6, p. 303-378, 1986.

HOFFMAN, R.; VIEIRA, S. **Análise de regressão: uma introdução à econometria**. 3.ed. São Paulo: Hucitec, 1998, 379p.

HOUGH, J.S. **The biotechnology of malting and brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, 1985. 159p.

IBGE. **Pesquisa do IBGE levanta principais produtos da indústria brasileira**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/30042002piaproduto1999.shtm>>. Acesso em: 2 mai. 2002.

IBGE. **Produção e vendas dos 100 maiores produtos e/ou serviços industriais, segundo posição e descrições dos produtos: Brasil**. 2003. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 09 dez 2005.

KELLY, S.D. Using stable isotope ratio mass spectrometry (IRMS) in food authentication and traceability. In: Lees, M. (Ed.) **Food authenticity and traceability**. London: Woodhead, 2003, cap.7, p.156-183.

LAGO, R. Brasil pirata. **Correio Brasiliense**, Brasília, 30 jun. 2003. Disponível em: <http://www2.correioweb.com.br/cw/EDICAO_20030630/col_net_300603.htm>. Acesso em: 20 set. 2005.

LEHNINGER, A.L. Biossíntese de carboidrato. In: MAGALHÃES, J.R. **Bioquímica: Biossíntese e a utilização das energias do fosfato**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 1976, v.3, cap.3, p. 441-596.

LEHNINGER, A.L. A fabricação de cerveja. In: LEHNINGER, A.L. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995, 2.ed., p. 309.

MARMIROLI, N.; PEANO, C.; MAESTRI, E. Advanced PCR techniques in identifying food components. In: Lees, M. (Ed.) **Food authenticity and traceability**. London: Woodhead, 2003, cap.1, p.3-33.

MERCADO cervejeiro aposta em crescimento para 2004. **Indústria de bebidas**. n. 13, p. 20-28, 2004.

MORTON, R.L.; QUIGGIN, D.; HIGGINS, T.J.V. Regulation of seed storage protein gene expression. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.) **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995, cap.5, p. 103-138.

MUKAI, T. Lei n.8.078, de 11 de setembro de 1990: arts. 1º a 11. In: OLIVEIRA, J. (Coord.) **Comentários ao código de proteção do consumidor**. São Paulo: Saraiva, 1991. p. 3-22.

MULVANEY, R. L. Mass spectrometry. In: KNOWLES, R.; BLACKBURN, T. H. (ed.). **Nitrogen Isotope Techniques**. San Diego: Academic Press, 1993, cap.2, p.11-57.

NOTÍCIAS del mundo. **Brewing and Beverage Industry Español**. n.3, p.6-7, 2005.

O'LEARY, M. H. Biochemical basis of carbon isotope fractionation. In: EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D. (Ed.) **Stable isotopes and plant carbon**: water relations. San Diego: Academic Press, 1993. cap.3, p. 19-28.

OLIVEIRA, A.C.B. et. al. Isótopos estáveis e produção de bebidas: de onde vem o carbono que consumimos? **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.22(3), p.285-288, 2002.

OLIVEIRA, M. H. **Cerveja: um mercado em expansão**. Rio de Janeiro, 1996. Disponível em: <<http://www.bndes.gov.br/conhecimento/bnset/cerveja.pdf>>. Acesso em: 29 set. 2005.

PARAÍSO da pirataria. **Jornal Nacional**, Rio de Janeiro, 08 abr. 2002. Disponível em: <<http://redeglobo1.globo.com/jn/semana.jsp?id=06159>>. Acesso em: 22 mai. 2002.

POLLOCK, J.R.A. **Brewing Science**. London: Academic Press. v.2, 1981. 666 p.

RADICIONE, L. Safra de inverno: momento de decisões e ações. **A Granja**, abr. 2002. p.12-18, 2002.

ROMERO, T. **O efeito social do álcool**. São Paulo, 18 out. 2005. Disponível em: <[http://www.agencia.fapesp.br/boletim_dentro.php?data\[id_materia_boletim\]=4493](http://www.agencia.fapesp.br/boletim_dentro.php?data[id_materia_boletim]=4493)>. Acesso em : 18 out. 2005.

ROSSMANN, A. Determination of stable isotope ratios in food analysis. **Food Reviews International**, New York, v.17, n.3, p. 347-381, 2001.

SCHIMEL, D.S. **Theory and application of tracers**. San Diego: Academic Press, 1993. 119 p.

SCHMIDT, H.L.; KUNDER, U.; WINKLER, F.J.; BINDER, H. Möglichkeiten des Nachweises von Rohfrucht-Verwendung zur Bierbereitung durch Kohlenstoff-Isotopenbestimmung. **Brauwissenschaft**, Nürnberg, v.33, n. 5, p. 124-126. 1980.

SHEARER, G.; KOHL, D.H. Natural abundance of ^{15}N . In: KNOWLES, R. BLACKBURN, T. H. (ed.). **Nitrogen Isotope Techniques**. San Diego: Academic Press, 1993, cap. 4, p. 89-125.

SINDICERV. **Mercado**. Disponível em: <<http://www.sindicerv.com.br>>. Acesso em: 02 set 2005. 2005a.

SINDICERV. Mercado cervejeiro segue acirrado. **Indústria de Bebidas**. n. 19, p. 6–12, 2005b.

SLEIMAN, M. **Produção de cerveja com extrato de malte nas formas de xarope e pó: análise físico-química, sensorial e energética**. 2002. 110f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Energia na Agricultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SLEIMAN, M.; DUCATTI, C.; VENTURINI FILHO, W.G.; SILVA, E.T. Isotopic analysis of carbon ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) and nitrogen ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) performed in raw material used for Pilsen beer brewing. BRAZILIAN MEETING ON CHEMISTRY OF FOOD AND BEVERAGES, 5. São Carlos, Anais ... São Carlos: Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo, p. 126, 2004.

STELLA ARTOIS: ícone de cerveja premium no mundo, chega ao Brasil. **Engarrafador Moderno**, Santo André, n. 134, p. 26-27, 2005.

STERN, L.A.; FOGEL, M.L. Isotopic lessons in a beer bottle. **Journal of Geoscience Education**, Fort Wayne, v.45, p.157-161, 1997.

SUHAJ, M.; KOVAC, M. Methods to detect food adulteration and authentication: 2. Alcoholic beverages. **Bulletin of Food Research**, Bratislava, v.39, n.2, p. 79-83, 1999.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de cerveja**. Jaboticabal: Funep, 2000. 83 p.

VOGEL, J.C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D. (Ed.) **Stable isotopes and plant carbon**: water relations. San Diego: Academic Press, 1993. cap.4, p. 29-46.

WAREMBOURG, F.R. Nitrogen fixation in soil and plant systems. In: KNOWLES, R.; BLACKBURN, T. H. (ed.). **Nitrogen Isotope Techniques**. San Diego: Academic Press, 1993, cap. 5, p. 127-156.

WINKLER, F.J.; SCHMIDT, H.L. Einsatzmöglichkeiten der ^{13}C -isotopen-massenspektrometrie in der lebensmitteluntersuchung. **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**, Berlim, v.171, n.2, p. 85-94, 1980.

WINTER, L. Globalmente presente. **Brewing and Beverage Industry Español**. n.3, p.18-19, 2005

YONEYAMA, T. Characterization of natural ^{15}N abundances of soils. In: BOUTTON, T.W.; YAMASAKI, S-I. (Ed.) **Mass Spectrometry of soils**. 1996. cap.8, p. 205-224.

YONEYAMA, T.; MATSUMARU, T.; USUI, K.; ENGELAAR, W.M.H.G. Discrimination of nitrogen isotopes during absorption of ammonium and nitrate at different nitrogen concentrations by rice (*Oryza sativa* L.) plants. **Plant, cell and environment**, Oxford, v.24, p.133-139, 2001.