

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PPGTA – PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS  
NÍVEL MESTRADO ACADÊMICO**

**MARIANA DÂMARIS DE OLIVEIRA**

**APLICAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO NO PROCESSO DE  
CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL**

**DISSERTAÇÃO**

**CAMPO MOURÃO  
2015**

MARIANA DÂMARIS DE OLIVEIRA

**APLICAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO NO PROCESSO DE  
CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

CAMPO MOURÃO  
2015

*“Tenha talento, trabalhe como um condenado, sue sangue,  
e você conseguirá tudo sem esforço!”*

*(Humberto Gessinger)*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me dar coragem e força para lutar pelos meus ideais, sempre iluminando meu caminho com oportunidades e pessoas que permitiram que eu chegasse até aqui. Por me ajudar a erguer a cabeça e enfrentar cada obstáculo, me mostrando que sempre temos força para superá-los e crescer.

À minha família, sempre presente, compartilhando os momentos bons e ruins da vida. À minha mãe Marilza e meu pai Paulo, pelo amor incondicional, pela união, pelos princípios e valores ensinados, por não medirem esforços para me fazer feliz a cada dia e, principalmente, por serem exemplos de bom caráter, determinação e dignidade.

À minha tia Neide por me dar a oportunidade de emprego em um momento muito difícil do mestrado, além de me dar apoio e incentivo, sempre acreditado na minha capacidade. Pela paciência quando precisei faltar ao trabalho para cumprir com os compromissos da pós-graduação e também possibilitar o convívio, que me fez admirar e espelhar em seu exemplo de determinação, amor, dedicação e caráter.

Ao meu namorado Leandro, por toda paciência dedicada a mim, por entender a minha ausência e, por além de me incentivar e “colocar a mão na massa” durante muitos fins de semana, sempre tinha palavras de carinho e otimismo, quando tudo parecia dar errado.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo pela confiança, incentivo e conhecimentos transmitidos, e por despertar em mim um interesse tecnológico e científico pela cerveja, descobrindo pequenos detalhes que tornaram este mundo cervejeiro ainda mais interessante e encantador.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos e, aos servidores do Departamento de Tecnologia de Alimentos pela colaboração no decorrer do curso e desenvolvimento do trabalho.

Às minhas amigas Larissa Rocha, Franciele Viell e Vanessa Rodrigues que tiveram participação direta no trabalho, estando sempre junto comigo no laboratório, na fabricação da cerveja e durante as análises. Mas agradeço pela participação direta também nos momentos de desespero, angústias e lágrimas. Pela companhia nos bons momentos, pelas cervejas que tomamos juntas para brindar as conquistas ou para “afogar as mágoas” – Vocês são incríveis e importantíssimas pra mim. Ao Jorge Leonardo Sanchez pelas palavras de tranquilidade e ajuda em diversas etapas deste curso.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho que, embora não tenham sido mencionados individualmente, têm toda minha gratidão.

MUITO OBRIGADA!!!

## RESUMO

OLIVEIRA, Mariana D. **Aplicação de amido modificado no processo de clarificação da cerveja artesanal**. 2015. 75p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira –PR.

O sabor da cerveja é determinado pela matéria-prima, pelo tipo de processo e pela levedura utilizada, além dos compostos produzidos durante a fermentação e maturação, que exercem maior impacto. A produção de amidos modificados é uma alternativa praticada com o objetivo de superar limitações dos amidos nativos e aumentar a utilidade deste polímero em aplicações industriais. O objetivo da pesquisa foi avaliar a aplicação de amidos de milho e mandioca modificados (fosfatação e oxidação) no processo de clarificação de cerveja artesanal, visando a obtenção de uma cerveja “limpa” e translúcida. Foram elaboradas oito cervejas testando os amidos aniônicos: amido de milho oxidado 1% (MiO 1%); amido de milho oxidado 2% (MiO 2%); amido de mandioca oxidado 1% (MaO 1%); amido de mandioca oxidado 2% (MaO 2%); amido de milho fosfatado baixo (MiFB); amido de milho fosfatado alto (MiFA); amido de mandioca fosfatado baixo (MaFB); amido de mandioca fosfatado alto (MaFA). Essas amostras foram comparadas com uma cerveja submetida ao mesmo processo utilizando o clarificante goma carragena (GCar) e com uma cerveja sem adição de clarificante (SC). As amostras foram submetidas às análises de compostos fenólicos, flavonóides, biureto, espectrofotometria, turbidez e viscosidade relativa para verificar a possível ação clarificante. Foi realizada a caracterização físico-química das amostras de cerveja artesanal (pH, extrato real, acidez, teor alcóolico, extrato primitivo e grau real de fermentação). A aplicação de amidos modificados reduziu o teor de compostos fenólicos, flavonóides, proteínas, e a viscosidade relativa no decorrer do processo. Além disso, a clarificação foi notada nas análises de turbidez e espectrofotometria. Pode-se concluir que alguns amidos destacaram-se, superando os resultados apresentados pela goma carragena na etapa final do processo. No entanto, notou-se que a eficiência destes amidos ocorre a partir da maturação, diferente da goma carragena que clarifica principalmente na etapa da fervura. Em um aspecto global, sugere-se que na fosfatação, a fonte botânica não influenciou, e as amostras destaques na clarificação foram o amido de milho fosfatado baixo (2,8%) (amostra 7), o amido e milho fosfatado alto (8,6%) (amostra 8) e o amido de mandioca fosfatado alto (amostra 10). Para a oxidação a amostra que apresentou melhor desempenho foi o amido de mandioca oxidado 1% (amostra 4).

**Palavras-chave:** Amido, oxidação, fosfatação, cerveja artesanal, clarificação.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Mariana D. **Application of modified starch in the clarifying process of the craft beer.** 2015. 75p. Dissertation (Master degree in Food Technology) – Technological Federal university from Paraná, Medianeira – PR.

The flavor of beer is determined by the feedstock, the type of process and the yeast used, in addition to the compounds produced during fermentation and maturation, that exerts greater impact. The production of modified starch is an alternative practiced with the aim of overcoming the limitations of the native starches and increase the usefulness of this polymer in industrial applications. The objective of the research was evaluate the application of corn and cassava modified starches (phosphatation and oxidation) in the craft beer clarification process to getting a beer "clean" and translucent. Were elaborated eight beers testing the anionic starches: oxidized corn starch 1% (MiO 1%); oxidized corn starch 2% (myo 2%); oxidized cassava starch 1% (MaO 1%); oxidized cassava starch 2% (MaO 2%); phosphated corn starch low (MiFB); phosphated corn starch high (MIFA); phosphated cassava starch low (MAFB); phosphate cassava starch high (MAFA). These samples were compared with a beer submitted to the same process using the clarifier carrageenan gum (CARG) and with a beer without added clarifier (SC). The samples were submitted to analysis of phenolic compounds, flavonoids, biuret, spectrophotometry, relative viscosity and turbidity to verify possible clarifier action. Was realized physicochemical characterization of craft beer samples (pH, real extract, acidity, alcohol content, original extract and real degree of fermentation). The application of modified starches reduced the content of phenolic compounds, flavonoids, proteins, and the relative viscosity during the process. In addition, the clarification was noted in turbidity analysis and spectrophotometry. It can be concluded that some starches stood out, overcoming the results presented by carrageenan gum in the final stage of the process. However, it was noted that the efficiency of these starches occurs from the maturation, different of carrageenan gum that clarifies mainly in the boiling step. In a global aspect, it is suggested that in the phosphatation, the botanical source did not influence, and the highlight samples in clarification were phosphated corn starch low (2.8%) (sample 7), phosphated corn starch high (8, 6%) (sample 8) phosphated cassava starch high (sample 10). To the Oxidation. the sample that showed better performance was oxidized cassava starch 1% (sample 4).

Keywords: Starch, oxidation, phosphatation, craft beer, clarification.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organização das regiões amorfas e cristalinas do amido.....	15
Figura 2. Reação de fosfatação do amido com tripolifosfato de sódio.....	17
Figura 3. Oxidação do amido, mostrando a formação dos grupos carbonilas e carboxilas.....	18
Figura 4. Interações entre proteína/polifenol.....	21
Figura 5. Fluxograma do processo de produção de cerveja artesanal com aplicação de amidos modificados como clarificadores.....	30

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Apresentação das amostras e modificações realizadas.....	24
Tabela 2. Percentual médio de teor de grupos carboxílicos e grupos carbonílicos das amostras avaliadas. ....	36
Tabela 3. Teor médio de fósforo obtido após a modificação por fosfatação em diferentes concentrações de tripolifosfato de sódio no amido de milho e mandioca. ....	37
Tabela 4. Viscosidade intrínseca após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca. ....	43
Tabela 5. Resultados do teste rápido: Hot-break e Cold-break. ....	45
Tabela 6. Resultados das análises físico-químicas realizadas para a caracterização das amostras de cerveja.....	57



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Gráfico de mosturação temperatura (°C) / Tempo (min). .....	29
Gráfico 2. Poder de inchamento médio obtido após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.....	39
Gráfico 3. Solubilidade após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.....	41
Gráfico 4. Compostos fenólicos durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.....	46
Gráfico 5. Teor de flavonóides durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.....	48
Gráfico 6. Método de Biureto para eliminação de proteínas durante o processo de obtenção de cerveja artesanal. ....	50
Gráfico 7. Efeito dos agentes clarificantes na absorbância da cerveja artesanal.....	52
Gráfico 8. Reação dos agentes clarificantes na turbidez da cerveja artesanal.....	54
Gráfico 9. Resultados de viscosidade intrínseca durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.....	55

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVO .....	14
2.1 OBJETIVO GERAL.....	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
3.1 AMIDO.....	15
3.2 MODIFICAÇÃO DO AMIDO.....	16
3.2.1 Fosfatação.....	17
3.2.2 Oxidação.....	17
3.3 PRINCIPAIS INGREDIENTES UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE CERVEJA .....	18
3.3.1 Água .....	19
3.3.2 Malte.....	19
3.3.3 Lúpulo.....	19
3.3.4 Levedura .....	20
3.4 CLARIFICAÇÃO DA CERVEJA .....	20
3.5 CLARIFICADORES .....	22
3.5.1 Goma carragena.....	22
4.1 MATERIAL .....	24
4.2 AMOSTRAS .....	24
4.3 MODIFICAÇÃO DO AMIDO.....	24
4.3.1 Oxidação.....	24
4.3.2 Fosfatação.....	25
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS MODIFICADOS .....	25
4.4.1 Determinação do teor de grupos carboxilas .....	25
4.4.2 Determinação do teor de grupos carbonilas .....	26
4.4.3 Teor de grupos fosfatos .....	26
4.4.4 Solubilidade e poder de inchamento.....	27
4.4.5 Viscosidade intrínseca .....	27
4.5 FABRICAÇÃO DA CERVEJA .....	27
4.5.1 Etapas do estudo experimental .....	27
4.5.2 Produção das cervejas.....	28
4.6 ESTRATÉGIA .....	30
4.6.1 Teste Rápido .....	31
4.6.2 Determinação de compostos fenólicos totais.....	31
4.6.3 Quantificação de flavonóides totais.....	32
4.6.4 Doseamento de proteínas pelo método Biureto .....	32
4.6.5 Turbidez.....	32
4.6.6 Espectrofotometria.....	33
4.6.7 Viscosidade relativa.....	33
4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA.....	33
4.7.1 Análise de pH .....	33
4.7.2 Extrato real .....	34
4.7.3 Extrato primitivo .....	34
4.7.4 Grau real de fermentação.....	34
4.7.5 Acidez.....	34
4.7.6 Teor alcoólico .....	35
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	36
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS MODIFICADOS .....	36
5.1.1 Teor de grupos carboxílicos e carbonílicos .....	36
5.1.2 Teor de grupos fosfatos .....	37
5.1.3 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL).....	39
5.1.3.1 Poder de inchamento (PI) .....	39
5.1.3.2 Solubilidade (SOL).....	41
5.1.4 Viscosidade intrínseca .....	43
5.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DA CERVEJA .....	44
5.2.1 Teste rápido .....	45
5.2.2 Compostos fenólicos .....	46
5.2.3 Flavonóides.....	48
5.2.4 Biureto .....	49
5.2.5 Espectrofotometria (Translucidez) .....	52
5.2.6 Turbidez.....	53
5.2.7 Viscosidade relativa.....	55
5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA.....	56
7 REFERÊNCIAS .....	60
8 ANEXOS .....	72

## 1. INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define cerveja como a bebida carbonatada obtida pela fermentação alcoólica de mosto oriundo de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo (BRASIL, 2009).

O sabor da cerveja é determinado pela matéria-prima, tipo de processo e pela levedura utilizada (LEONEL, JACKEY, CEREDA, 1998). Para a elaboração, deve-se ter atenção a todo o processo, pois os detalhes influenciarão no resultado. Um aspecto vítreo, conta pontos para a avaliação da mesma, pois exceto as cervejas de trigo, que naturalmente tendem à turbidez, esta característica é, em geral, tida como defeito no produto final (PIACENTINI, 2011). Sabendo disso, a clarificação da cerveja pode ser obtida com a ajuda do tempo e da gravidade, combinado com adição de um produto clarificante, que vai impedir partículas que causam turbidez permaneçam suspensas na cerveja após finalizada (NACHEL, 2008)

No processo de fabricação de cerveja, especificamente na etapa de fervura do mosto procura-se eliminar o excesso de proteínas procedentes do malte através da desnaturação térmica e da formação de complexos entre as proteínas e os compostos polifenólicos presentes no lúpulo (WARD, 2015). Ao final desta etapa pode-se acrescentar um agente clarificante para otimizar esse processo (NACHEL, 2008). Um dos mais utilizados é a goma carragena (PEREIRA, 2004), que é um polissacarídeo carregado negativamente com grupos éster sulfatos ( $-\text{OSO}_3^-$ ) que ligam-se as cargas positivas das proteínas causando a precipitação a quente (hot break) do complexo proteína-carragena, que é separado do mosto por turbilhamento (PEDROSO, 2006).

O amido é um polissacarídeo versátil obtido de diferentes origens botânicas (NWOKOCHA et al., 2009). No entanto, na sua forma nativa possui algumas limitações (FOULADI, MOHAMMADI, 2014) como baixa resistência térmica e mecânica (CHIN, PANG, LIM, 2012) e elevada tendência à retrogradação (SINGH, KAUR, MCCARTHY, 2007) dificultando sua utilização em produtos alimentícios. Por isso, utilizam-se modificações físicas e/ou químicas para que este apresente propriedades e/ou características desejadas em aplicações específicas (KAUR et al., 2012). Algumas modificações podem resultar em um amido negativamente carregado (LI et al., 2009) e, essa carga negativa é capaz de reagir com proteínas através das ligações eletrostáticas (LI et al., 2012).

Pellegrino (1987), avaliando o processo de precipitação de proteínas do soro de queijo, verificou que o amido de milho monofosfatado mostrou-se como agente de precipitação através de um mecanismo de interação iônica. De acordo com Xie, Liu e Cui (2005) amidos

oxidados contendo grupos carboxilatos e aldeídos são utilizados em sistemas de cobertura de produtos cárneos (empanados) pela capacidade que os grupos carboxilas têm de formar pontes salinas com as proteínas e os grupos aldeídos de reagir com os grupos aminos. Em 2015 Wang et al., apresentaram um estudo sobre a absorção de proteínas de soro de leite emulsificadas em microgéis de amido oxidados, onde obtiveram uma interação positiva entre amido oxidado e proteína.

Diante disso, acredita-se que os amidos contendo grupos fosfatos e carboxilatos, carregados negativamente, ou grupos aldeídos possam agir como precipitadores de proteínas apresentando ação clarificante no processo de fabricação de cerveja. Deste modo, o objetivo do trabalho foi avaliar a aplicação do amido de milho e mandioca fosfatado e oxidado no processo de clarificação de cerveja artesanal.

## 2. OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Obter amidos aniônicos de milho e mandioca e avaliar a aplicação dos mesmos no processo de clarificação de cerveja visando à obtenção de uma cerveja translúcida.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificar quimicamente o amido de milho e de mandioca com tripolifosfato de sódio e hipoclorito de sódio em diferentes concentrações promovendo a formação de cargas negativas.
- Realizar a caracterização dos amidos modificados (teor de grupos carboxilas, teor de grupos carbonilas, teor de grupos fosfatos, solubilidade e poder de inchamento, viscosidade intrínseca).
- Avaliar o efeito dos diferentes amidos modificados no processo de clarificação de cerveja comparando com o clarificante goma carragena e com uma cerveja sem clarificante.
- Realizar a caracterização das cervejas por meio de análises físico químicas (pH, extrato real, extrato primitivo, grau de fermentação, teor alcoólico, acidez).

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 AMIDO

O amido é um polímero que pode ser obtido a partir de várias fontes botânicas em forma de grânulos (ZHANG et al., 2010), composto por dois polissacarídeos, a amilose e a amilopectina. A amilose é uma molécula essencialmente linear formada por unidades de  $\alpha$ -D-glicopiranosil unidas por ligações  $\alpha$ -1,4 com alguns pontos de ligação  $\alpha$ -1,6. A amilopectina é altamente ramificada, composta por unidades de  $\alpha$ -D-glicopiranosil unidas por ligações  $\alpha$ -1,4 e com 4 a 5% de ligações  $\alpha$ -1,6 nos pontos de ramificação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os grânulos apresentam tamanho (0,1 a 200  $\mu\text{m}$ ) e forma (redondo, oval, poliédrico) que variam com a origem botânica (BEMILLER, WHISTLER, 2009).

A amilose e a amilopectina se associam por ligações de hidrogênio, formando áreas cristalinas ordenadas (KUAKPETTON, WANG, 2006). Entre essas áreas cristalinas existem regiões amorfas (Figura 1), nas quais as moléculas não têm uma orientação particular. Quando visto microscopicamente em luz polarizada, o grânulo de amido é birrefringente (organização molecular) (YONEMOTO, 2006; BEMILLER, WHISTLER, 2009). A refração pelas suas regiões cristalinas resulta no modelo típico de “cruz de malta”, caracterizando a orientação radial das macromoléculas. O “hilum” encontrado no centro da cruz é considerado o ponto original de crescimento do grânulo (SITOHY, 2000; MENDES, 2011).

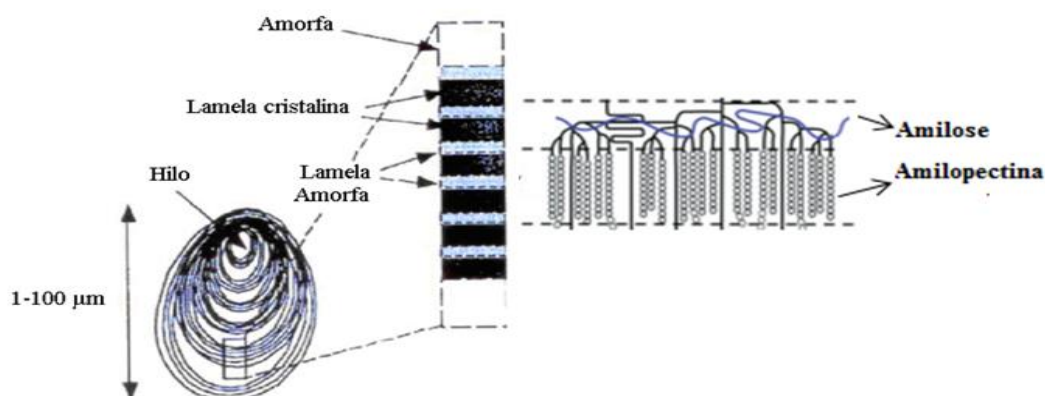


Figura 1. Organização das regiões amorfas e cristalinas do amido

Fonte: Modificado de LSBU (2009).

No Brasil, os amidos de maior importância industrial são os amidos de milho e de mandioca (LACERDA, 2006). O milho é um cereal de grande utilização industrial e é

largamente utilizado para muitos tipos de modificações, gerando assim produtos com muitas aplicações. Esta fonte vegetal contém de 60 a 68% de amido (LACERDA, 2006). O amido de mandioca apresenta uma enorme gama de possibilidades para aplicação. As indústrias alimentícias são as maiores consumidoras de amido, entretanto, este polímero é usado também em um grande número de processos industriais destacando seu uso pelas indústrias química e têxtil (LEONEL; CEREDA, 2002).

O teor de amilose nos grânulos de amido varia de acordo com a fonte vegetal de origem, geralmente encontra-se nos intervalos de 20-30% em amidos normais de cereais. O amido de milho contém entre 25-28% de amilose, enquanto o de mandioca possui apenas 17% (WEBER, COLLARES-QUEIROZ, CHANG, 2009). Devido a essa diferença, os géis de amido de milho são mais rígidos, enquanto que os de mandioca são mais viscosos e transparentes (FRANCO et al., 2002).

A amilose é formada por uma cadeia linear de unidades de  $\alpha$ -D-glicoses unidas por aproximadamente 99% de ligações ( $\alpha$  1-4) e pode conter de 350 a 6000 unidades de glicose em sua estrutura, apresentando estrutura helicoidal,  $\alpha$ -hélice, formada por ligações de hidrogênio entre os radicais hidroxilas das moléculas de glicose (KAUR et al., 2012).

### 3.2 MODIFICAÇÃO DO AMIDO

Os amidos são modificados para superar as carências encontradas nos amidos nativos como baixa estabilidade, baixa resistência à tensão de cisalhamento, pH, pressão e mudanças de temperatura durante processos tecnológicos bem como durante a estocagem do produto final, aumentando sua utilização em aplicações industriais (KAUR et al., 2012). Conseqüentemente, o estudo de suas características visa entender propriedades tecnológicas e aumentar sua aplicação na área alimentícia (KOO, LEE, LEE, 2010).

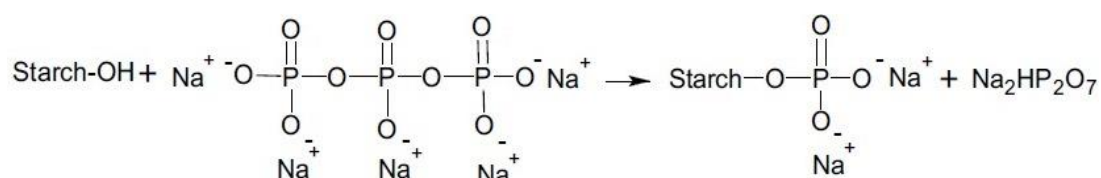
Vários fatores contribuem para obtenção de características específicas dos amidos, como a fonte botânica da qual é extraída e o modo de extração (CEREDA, VILPOUX, DEMIATE, 2003). Para atender a demanda de características reológicas específicas de novos produtos alimentícios, amidos de diferentes fontes são submetidos a modificações por processos químicos (oxidação, fosfatação, acetilação, succinilação, intercruzamento de ligações), físicos (extrusão e pré-gelatinização) (SINGH, KAUR, MCCARTHY, 2007) ou ainda por processos enzimáticos e meios genéticos (ZAVAREZE et al., 2010; KAUR et al., 2012), tendo suas propriedades alteradas.



### 3.2.1 Fosfatação

A modificação por fosfatação restringe o inchamento interno e mantém a resistência a ação mecânica do amido estabilizando a viscosidade da pasta quente. Neste caso o amido não incha facilmente e pode ser manuseado em altas temperaturas e pressões (NABESHIMA; EL-DASH, 2004). Amidos nativos contêm pequenas quantidades de fósforo, geralmente inferior a 0,1% (WURZBURG, 1986). O amido modificado é considerado um aditivo químico em alimentos, portanto, a legislação preconiza níveis de fósforo não superiores há 0,4% (Codex Alimentarius – FAO) (FDA, 2007).

A modificação química do amido com tripolifosfato de sódio (TPS,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) acontece por meio de esterificação e pode ocorrer em qualquer oxidrila (WATTANCHANT et al., 2003), causando a repulsão entre cadeias adjacentes das macromoléculas do amido, que introduz grupos fosfatos carregados negativamente (Figura 2), reduz as associações entre cadeias e facilita a hidratação do amido. A presença de fósforo nas moléculas é um importante fator na variação das suas propriedades funcionais (KARIM et al., 2007). Além disso, as propriedades químicas e funcionais conseguidas com a modificação do amido dependem da fonte (WATTANCHANT et al, 2003), condições da reação (concentração de reagente, tempo de reação, pH e presença de catalisador), tipo de substituição e a distribuição do substituinte na molécula de amido (HIRSCH & KOKINI, 2002) para determinar o número de grupos fosfato incorporados a molécula de amido.



**Figura 2. Reação de fosfatação do amido com tripolifosfato de sódio.**

Fonte: Modificado de Sherry, Xie, Qiang e Steve (2005).

### 3.2.2 Oxidação

A oxidação do amido é um processo químico onde os grupos funcionais carboxila e carbonila podem ser introduzidos nas cadeias de amido a partir da oxidação dos grupos hidroxilas (SANGSEETHONG, TERMVEJSAYANON, SRIROTH, 2010). O amido oxidado é produzido pela reação do amido com um agente oxidante sobre condições controladas de pH e temperatura (WANG, WANG, 2003; SANCHEZ-RIVERA et al., 2005). Durante a oxidação, os grupos hidroxilas das moléculas de amido são oxidados a grupos carbonílicos

(C=O) e carboxílicos (COOH), principalmente em C-2, C-3 e C-6 (KUAKPETOON; WANG, 2001; FRANCO et al., 2002) (Figura 3). A oxidação também ocasiona o rompimento das ligações D-glucana  $\alpha$ -1,4 causando a despolimerização da molécula (WURZBURG, 1986).

As principais propriedades do amido oxidado são baixa viscosidade, alta estabilidade e claridade de pasta (WURZBURG, 1986). Esta modificação também promove atividade antibacteriana atribuída principalmente aos agrupamentos aldeídos formados durante a oxidação (SONG et al., 2010). Os amidos podem ser oxidados por diversos agentes oxidantes como hipoclorito de sódio (KUAKPETOON; WANG, 2001; KUAKPETOON; WANG, 2008) peróxido de hidrogênio (TAVARES et al., 2010), ozônio (CHAN et al., 2011), periodato (YU; CHANG; MA, 2010) e permanganato de potássio (SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007), entretanto, a produção comercial de amido oxidado para aplicações em alimentos emprega principalmente hipoclorito de sódio (WURZBURG, 1986).

Dependendo do agente oxidante e das condições da reação, podem ser gerados preferencialmente grupos carboxila ou carbonila. Em condições ótimas de reação, o hipoclorito introduz mais grupos carboxílicos enquanto o peróxido introduz grupos carbonílicos (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010). Uma característica marcante dos amidos oxidados é seu caráter aniônico (CEREDA; FRANCO, 2001). Baseado nisso, por possuírem cargas negativas acredita-se que os grupamentos carboxílicos formados durante a oxidação podem reagir com alguns aminoácidos das proteínas, formando pontes salinas promovendo sua precipitação.

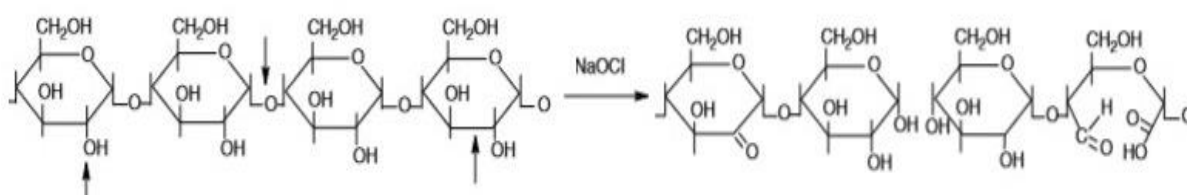


Figura 3. Oxidação do amido, mostrando a formação dos grupos carbonilas e carboxilas.

Fonte: Modificado de Sherry, Xie, Qiang e Steve (2005).

### 3.3 PRINCIPAIS INGREDIENTES UTILIZADOS NA PRODUÇÃO DE CERVEJA

A cerveja é uma bebida de malte resultante da fermentação alcoólica do extrato aquoso do malte de cevada com lúpulo (WALKER, 2000). O processo cervejeiro é consequência de múltiplos estágios, envolvendo a conversão biológica de materiais *in natura* em produto final (CARVALHO et al., 2006), considerado chope a cerveja que não foi pasteurizada no envase

(BRASIL, 1997). Sabendo disso, é importante conhecer sobre cada ingrediente utilizado no processo.

### 3.3.1 Água

A água como matéria-prima cervejeira é especialmente importante, pois constitui mais de 90% da mesma. Assim sendo, as suas características físicas e químicas são de fundamental importância para a obtenção uma cerveja de qualidade (GOLDAMMER, 1999). Esta deve assegurar um pH desejável (6,5 - 7,0) na mistura de malte e adjunto durante a mosturação, promover a extração dos componentes amargos e aromáticos do lúpulo, bem como uma boa coagulação do trub (proteínas) durante a fervura, a fim de permitir uma boa fermentação e desenvolver cor, aroma e sabor característico do tipo de cerveja fabricada (BERNSTEIN, WILLOX, 1977). Um fator fundamental no controle do pH da água é que a alcalinidade poderá ocasionar a dissolução de materiais existentes no malte e nas cascas, que são indesejáveis no processamento (TALUFO et al., 2010).

### 3.3.2 Malte

O malte utilizado na indústria cervejeira é obtido a partir de cevadas de variedades selecionadas especificamente para essa finalidade (CEREDA, 1985). A cevada maltada forma alguns compostos através da reação de Maillard, que são responsáveis por conferir cor, sabor, odor e corpo característico e normalmente agradável à cerveja (CEREDA; VENTURINI FILHO, 2005).

Em termos simples, a maltagem é a germinação controlada de grãos de cereais. Essa visa o desenvolvimento enzimático, com a ativação de enzimas presentes no cereal não maltado (HARDWICK, 1995). Formam-se enzimas, principalmente  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase e proteases, que serão utilizadas na conversão das matérias primas em mosto cervejeiro (CEREDA; VENTURINI FILHO, 2005). Depois de transformado, o malte é o fornecedor dos açúcares, entre outras substâncias, necessários para o processo de fermentação (FIX, 1999). O malte deve, ainda, fornecer casca que será utilizada como auxiliar de filtração na clarificação do mosto (VENTURINI FILHO, 2000).

### 3.3.3 Lúpulo

O lúpulo (*Huamulus lupulus* L.) é uma trepadeira perene, dióica (apresenta plantas masculinas e femininas) pertencente à família *Cannabinaceae* (VENTURINI FILHO, 2000). As flores femininas e os frutos recorrentes são ricos em glândulas amarelas, contendo resinas

(15%), que conferem o gosto amargo e óleos essenciais, que são responsáveis pelo aroma, os quais caracterizam a bebida (HOUGH, 1985). O lúpulo também possui ação antisséptica, pois os ácidos iso-alfa são bacteriostáticos e contribuem para a estabilidade do sabor e da espuma da cerveja, além de ajudar na coagulação de proteínas (GRAT, 1977).

#### 3.3.4 Levedura

A levedura é o microrganismo responsável pela conversão de açúcares fermentáveis em etanol e outros subprodutos (OSMAN et al., 2003). Pertencem a espécie *S. cerevisiae* (KUHBECK, 2006). Na presença de oxigênio, estes microrganismos multiplicam-se, mas, na sua ausência realiza a fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, metabolizando os açúcares fermentescíveis (maltose, glicose e maltotriose) para produzir álcool, CO<sub>2</sub>, energia na forma de ATP (adenosina tri-fosfato) e calor, que são essenciais para a produção de cerveja (VENTURINI FILHO; CEREDA, 1996). Além disso, podem contribuir com aspectos florais, frutados ou minerais, indicados para diferentes estilos de cerveja.

#### 3.4 CLARIFICAÇÃO DA CERVEJA

A qualidade da cerveja pressupõe a ausência de compostos que conferem aspectos indesejáveis (WOLFE et al., 2012). A translucidez é um componente da qualidade da cerveja e depende de vários fatores que estão relacionados com as matérias-primas, o processo de desenvolvimento e tipo de clarificante utilizado (POSADA, 1995). Todos os clarificantes podem ser considerados conservantes, pois removem partículas orgânicas da cerveja que eventualmente poderiam prejudicar suas características e desenvolver sabores e aromas desagradáveis (NACHEL, 2008). Entre os parâmetros mais importantes na avaliação de qualidade estão o sabor, a presença e permanência de espuma, cor, teor de álcool e presença de resíduos ou precipitados (estabilidade) (CÁRDENAS, 2003).

A instabilidade física da cerveja ocorre principalmente pela formação de turbidez. A matéria-prima utilizada para a produção da cerveja é fonte de precursores da turbidez, como polifenóis e proteínas (KEUKELEIRE, 2000). A translucidez do mosto é determinada pelo conteúdo de partículas microscópicas suspensas que resultam a precipitação e floculação de polipeptídios e polifenóis durante a fervura do mesmo (LEATHER, WARD, 1994).

A cerveja pode ser considerada uma boa fonte de polifenóis (LUGASI, 2003). Estes são provenientes do malte (cerca de 70 a 80%) e do lúpulo (entre 20 e 30%) (GERHAUSER, 2005). Os compostos fenólicos podem ser encontrados em sua forma livre ou, mais frequentemente, ligados a outros compostos, como ésteres e glicosídeos. São derivados de

ácidos hidrobenczoicos (ácido gálico, ácido protocatechuico, ácido siríngico) e ácidos hidroxicinâmicos (ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido caféico) são principalmente extraídos do malte, enquanto que os flavonóis (quercetina, canferol), chalconas (xanthohumol) e flavanonas (isoxanthohumol e prenilnaringenina) são encontrados no lúpulo. Catequinas, procianidinas e taninos derivados de flavonóis são igualmente encontrados no malte e no lúpulo (SIQUEIRA, BOLINI, MACEDO, 2008).

Em temperaturas elevadas (cerca de 70°C), ocorre a formação de coágulos grandes, pois as proteínas que provocam a turvação são ricas em prolina, que por ter a cadeia aberta combina-se com os polifenóis, formando o complexo proteína-polifenol (WARD, 2015). Se houver a mesma quantidade dos dois compostos (Figura 4), a interação será maior, aumentando o sedimento. Com a queda de temperatura após a fervura, as proteínas voltam à estrutura menor (rompem-se dos polifenóis), retornando para o meio, causando a turvação. Com uma baixa concentração de proteína não se pode estabelecer pontes entre proteínas e polifenóis, deixando os complexos menores, evitando a turbidez (CÁRDENAS, 2003).

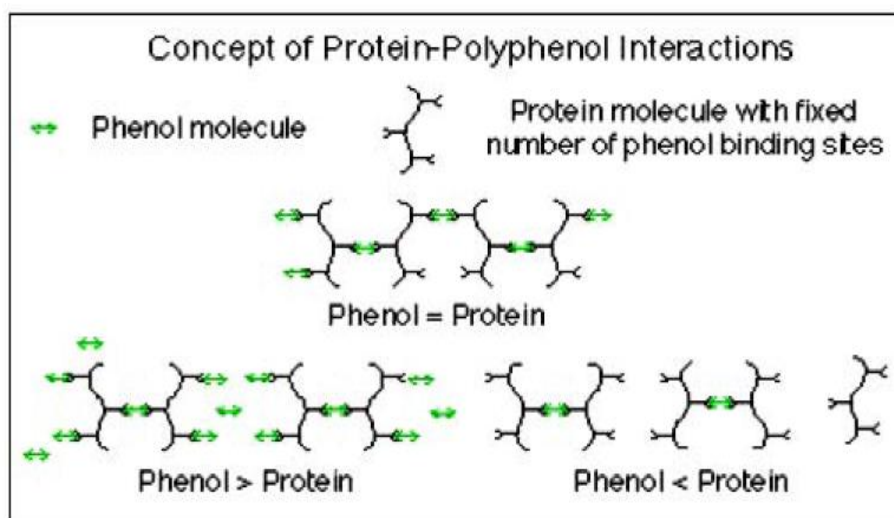


Figura 4. Interações entre proteína/polifenol.

Fonte: SIEBERT (1999).

Consequentemente, a manipulação do processo de produção aponta a remoção dessas partículas, que vão melhorar a clarificação a frio, por conseguinte, a qualidade da cerveja acabada. As partículas microscópicas do mosto podem passar por mais processos floculantes para formar precipitados macroscópicos, durante a ebulição (hot break) ou resfriamento (cold break) (LEATHER, WARD, 1994). Para reforçar a precipitação dessas partículas, podem ser adicionados ao mosto agentes clarificadores. Este processo resulta em melhorias na claridade

do mosto frio, em comparação com mostos não adicionados, fornecendo benefício significativo. A reação que acontece nesse procedimento é uma interação eletrostática entre as moléculas carregadas negativamente e os polipeptídios (cargas positivas), gerando uma coprecipitação desses compostos (NACHEL, 2008). O clarificante pode contribuir também ligando-se aos complexos taninos-protéicos, pois essa interação está em suspensão e não consegue decantar, provocando turvação em baixas temperaturas (REINOLD, 1997).

### 3.5 CLARIFICADORES

A claridade sempre foi considerada como uma qualidade essencial para a maioria dos tipos de cerveja. Por isso, os agentes clarificadores são aplicados no mosto, na cerveja fermentada, na maturação, e no produto final. Uma característica desejável durante a fervura do mosto é ter floculação rápida com coesão forte e compactação do trub, permitindo a obtenção de um mosto claro (RYDER, POWER, 2006).

#### 3.5.1 Goma carragena

As carragenas são um grupo de polissacarídeos naturais que estão presentes na estrutura celular de algas marinhas vermelhas do tipo *Rhodophyceae*. Quimicamente, são poligalactanos, polímeros sulfatados de moléculas alternadas de D-galactose e 3-6 anidro-D-galactose (3,6-AG) unidas por ligações glicosídicas  $\alpha(1-3)$  e  $\beta(1-4)$  (CARRAGENA, 2000).

Na produção de cerveja, a utilização da carragena ajuda na clarificação do caldo de lúpulo e permite a floculação seletiva das proteínas insolúveis, resultando assim em uma cerveja mais cristalina (PEREIRA, 2004).

Como formulação química de base as cadeias moleculares destes polissacarídeos apresentam duas características fundamentais: são constituídas a partir de um monômero (galactose) e contêm uma forte proporção de radicais  $\text{OSO}_3^-$  (24 a 26%), aos quais se deve a carga negativa apresentada pelo composto (PEDROSO, 2006). Sabendo disso, a reação que ocorre nas proteínas do mosto é semelhante ao mecanismo das proteínas do leite, onde as carragenas são altamente reativas com as proteínas do leite, devido a forte interação eletrostática entre os grupos sulfatos, negativamente carregados, da molécula de carragena com a micela da caseína que possui regiões de forte carga positiva (CARRAGENA, 2000). O resultado da interação carragena/proteína depende do pH do sistema e do ponto isoelétrico da proteína (PEREIRA, 2004).

Após a fervura, ocorre a decantação das proteínas que consistem de complexos proteína-proteína ou proteína-polifenol, normalmente promovido pela adição de goma

carragena (Irish moss ou Whirlfloc) perto do final da fervura (WOLFE et al.; 2012). Além de colaborar com a decantação das proteínas da cerveja, as carragenas são indicadas para estabilizar as emulsões e espumas devido a sua alta capacidade de formar matrizes 3-D e sua forte interação eletrostática (CARRAGENA, 2000).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Foram utilizados amidos de milho e de mandioca adquiridos no mercado local e os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica. As cervejas foram produzidas com água potável sem cloro. O malte tipo Pilsen e os lúpulos (Galena e Saaz) foram obtidos de um distribuidor de insumos para microcervejeiros. Para fermentação da cerveja foi utilizada uma cepa de *Saccharomyce cerevisiae* de alta fermentação de denominação comercial Fermentis Safale S-04.

### 4.2 AMOSTRAS

Para avaliar o efeito da clarificação de cerveja artesanal utilizando amido modificado como substituto da goma carragena, foram aplicados dois tipos de modificações (fosfatação e oxidação), em duas concentrações para cada fonte botânica, resultando em 8 tratamentos. O código, fonte botânica, tipo de modificação e concentrações de reagentes estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1. Apresentação das amostras e modificações realizadas.**

Ensaio	Código	Fonte Botânica	Modificação	Concentração (%)	Reagente
1	MiO (1%)	Milho	Oxidação	1	Hipoclorito de sódio (NaClO)
2	MiO (2%)	Milho	Oxidação	2	Hipoclorito de sódio (NaClO)
3	MaO (1%)	Mandioca	Oxidação	1	Hipoclorito de sódio (NaClO)
4	MaO (2%)	Mandioca	Oxidação	2	Hipoclorito de sódio (NaClO)
5	MiFB	Milho	Fosfatação	2,8	Tripolifosfato de sódio (Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> )
6	MiFA	Milho	Fosfatação	8,6	Tripolifosfato de sódio (Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> )
7	MaFB	Mandioca	Fosfatação	2,8	Tripolifosfato de sódio (Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> )
8	MaFB	Mandioca	Fosfatação	8,6	Tripolifosfato de sódio (Na <sub>5</sub> P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> )

### 4.3 MODIFICAÇÃO DO AMIDO

#### 4.3.1 Oxidação

A oxidação do amido nativo foi realizada seguindo o método descrito por Sangseethong, Lertphanich, Sriroth (2009). O hipoclorito de sódio (NaClO) foi adicionado nos devidos tratamentos na concentração de 1 % e 2% (m/m) de cloro ativo em relação a massa de amido (300 g, b.s.). A dispersão foi mantida sob agitação e o pH conservado em torno de 8,5 mediante adição de HCl 3% (m/v) e NaOH 3% (m/v) ao longo do período de 2 horas de reação em temperatura ambiente. O pH da dispersão foi ajustado para 6,5 pela adição



de HCl 3% (m/v). O amido foi recuperado por filtração a vácuo, lavado com 2000 mL de água destilada para eliminar o excesso de reagentes, e seco em estufa a 45°C por 8 horas.

#### 4.3.2 Fosfatação

O amido nativo foi submetido a fosfatação baseado no método descrito na patente de Kerr e Clevelanand (1964). Cada amostra (300 g. b.s.) foi suspensa em 408 mL de água destilada e, em seguida foram adicionadas quantidades pré-determinadas de tripolifosfato de sódio para cada tratamento, sendo a dispersão agitada por 30 minutos, o amido recuperado por filtração à vácuo e seco em estufa a temperatura de 45°C até 10% de umidade. Em seguida, a amostra seca foi moída e colocada em estufa com circulação de ar forçada por 4 horas à temperatura de 130°C. O amido foi suspenso em água, filtrado e lavado com 2000 mL de água destilada. Após, seco à 45°C até atingir 10% de umidade.

### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS MODIFICADOS

#### 4.4.1 Determinação do teor de grupos carboxilas

O teor de grupos carboxilas foi determinado pelo método de SMITH (1967). O amido oxidado foi disperso em 100 mL de uma solução padronizada de HCl 0,1 mol/L e agitados por 30 minutos. A dispersão foi filtrada e o resíduo foi lavado com água destilada até completa remoção do íon cloreto e, em seguida foi seco em estufa a 45°C por 8 horas. Amostras de 2,0 gramas dos amidos lavados foram dispersos em 300 mL de água destilada e aqueceu-se a dispersão em banho de água fervente com agitação contínua por 15 minutos até a completa gelatinização do amido. A dispersão foi resfriada até a temperatura ambiente e titulada com solução padronizada de NaOH 0,1 M até pH 8,3. Como branco foi utilizada uma amostra de 2,0 gramas de amido nativo, a qual foi gelatinizada e titulada de maneira análoga à do amido oxidado. O teor de grupos carboxilas foi calculado utilizando a Equação 1, onde a % COOH corresponde ao percentual de carboxilas,  $V_1$  ao volume (mL) de NaOH na amostra gasta em titulação,  $V_2$  ao volume (mL) de NaOH na amostra branco gasta em titulação,  $[NaOH]$  a concentração mol/L de NaOH,  $m$  a massa (g) da amostra (b.s) e 0,045 a massa (g) miliequivalente do grupo carboxila (-COOH).

$$\% \text{ COOH} = \frac{(V_1 - V_2) \times [NaOH] \times 0,045 \times 100}{m} \quad (2)$$

#### 4.4.2 Determinação do teor de grupos carbonilas

O teor de grupos carbonilas foi determinado seguindo a metodologia de SMITH (1967). Uma amostra de 2,0 gramas de amido oxidado, previamente lavada com água destilada, foi pesada e gelatinizada pela adição de 100 mL de água destilada em estado de ebulição. Após resfriamento da dispersão até a temperatura ambiente, ocorreu acidificação até pH 3,2 e adicionou-se 15 mL de solução de cloreto de hidroxilamina a 5% (p/v). A dispersão foi aquecida em banho de água a 40°C por 4 horas para então ser titulada com solução padronizada de HCl 0,1 mol/L até pH 3,2. Como branco foi usada uma mostra de 2,0 g de amido nativo, a qual foi gelatinizada e titulada de maneira similar à do amido oxidado. O teor de grupos carbonilas foi calculado utilizando a Equação 2, onde % CO corresponde ao percentual de carbonilas,  $V_1$  ao volume (mL) de HCl na amostra gasta em titulação,  $V_2$  ao volume (mL) de HCl na amostra branco gasta em titulação,  $[HCl]$  a concentração mol/L de HCl,  $m$  a massa (g) da amostra (b.s) e 0,028 a massa (g) miliequivalente do grupo carbonila (-C=O).

$$\% CO = \frac{(V_1 - V_2) \times [HCl] \times 0,028 \times 100}{m} \quad (2)$$

#### 4.4.3 Teor de grupos fosfatos

O teor de grupos fosfatos foi determinado pelo método de Maneesriraj, Phetkoa e Narkrugsa (1998). O amido fosfatado e desengordurado (extração soxhlet com metanol 80% por 8 horas) foi disperso em 100 mL de água destilada e o pH foi ajustado a 2,0 com HCL 6 M. Este foi recuperado por centrifugação (1800 rpm por 5 min.), lavado três vezes com água destilada, sendo o resíduo transferido quantitativamente para um béquer de 100 mL e disperso com 20 mL de água destilada. A dispersão de amido foi titulada com auxílio de um pH-metro com solução de NaOH 0,1 mol/L tendo o cuidado de anotar o volume do titulante quando atingir o pH 5 ( $V_a$ ) e o pH 9 ( $V_b$ ). O teor de grupos fosfatos foi obtido utilizando a Equação 3, onde %GP corresponde ao percentual de grupos fosfatos,  $V_a$  a mL de NaOH 0,1 mol/L pH 5,0,  $V_b$  a mL de NaOH 0,1 mol/L pH 9,5,  $[NaOH]$  a concentração mol/L de HCl e  $m$  a massa (g) da amostra (b.s).

$$\%GP = \frac{(V_b - V_a) \times [NaOH] \times 0,31}{m} \quad (3)$$

#### 4.4.4 Solubilidade e poder de inchamento

O amido foi submetido à análise de poder de inchamento e solubilidade baseado na metodologia de Leach, McCowen e Schoch (1959). A amostra (1,0 g) foi inserida em um tubo de centrífuga, previamente pesado e tarado, e 40 ml de água destilada foram adicionados. Os tubos permaneceram em agitação por 30 minutos a temperaturas de 60, 70, 80 e 90 °C. Após, o tubo foi resfriado e centrifugado por 10 minutos a 4677 G. O sobrenadante foi recolhido e pesado em placa de petri, previamente taradas e secas em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da massa de amido solúvel ( $M_1$ ) e os tubos, contendo os grânulos de amido intumescidos foram pesados para determinar a massa final intumescida ( $M_2$ ) e calcular o poder de inchamento dos grânulos de amido (Equação 4). A solubilidade foi calculada pela relação da massa de amido solúvel e a massa inicial de amido ( $M_i$ ), em base seca (Equação 5).

$$\text{Poder de inchamento (g. } 100\text{g}^{-1}\text{)} = \frac{M_2}{M_i - M_1} \quad (4)$$

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{M_1}{M_i} \cdot 100 \quad (5)$$

#### 4.4.5 Viscosidade intrínseca

A determinação dos tempos de fluxos (segundos) do solvente NaOH 1,0 mol.L<sup>-1</sup> e das amostras dissolvidas (0,1 g.100 mL<sup>-1</sup>) foi realizada utilizando um viscosímetro Cannon-Fenske n. 50, mantido em banho térmico de água a 30 °C (LEACH,1963). A viscosidade intrínseca foi obtida por meio da equação de Solomon e Ciuta (1962). Onde,  $\eta_{in}$  corresponde à viscosidade intrínseca (dL.g<sup>-1</sup>),  $c$  a concentração da solução (g.dL<sup>-1</sup>),  $\eta_{sp}$  a viscosidade específica (dL.g<sup>-1</sup>) e  $\eta_{nr}$  corresponde a viscosidade relativa (dL.g<sup>-1</sup>) (Equação 6).

$$\eta_{in} = \left(\frac{1}{c}\right)^2 \sqrt{2(\eta_{sp} - L\eta_{nr})} \quad (6)$$

### 4.5 FABRICAÇÃO DA CERVEJA

#### 4.5.1 Etapas do estudo experimental

O estudo experimental foi realizado em três etapas. A primeira foi padronizar a formulação das cervejas; a segunda, acompanhar a clarificação durante todo o processo até a obtenção do produto final através de análises (compostos fenólicos, flavonóides, biureto,

espectrofotometria, turbidez e viscosidade relativa); e na terceira etapa, obter a caracterização físico-química das cervejas elaboradas artesanalmente.

Inicialmente para a produção das cervejas, Todos os utensílios utilizados foram sanitizados com álcool 70° GL e submetidos ao vapor, com o objetivo de prevenir qualquer tipo de contaminação.

Foram produzidas oito formulações de cerveja empregando os amidos modificados. Paralelamente, foram elaboradas duas formulações como parâmetro comparativo: uma denominada “Formulação Controle” que utilizou clarificante goma carragena e, outra que não teve nenhum tipo de clarificante adicionado. Estas foram elaboradas nas mesmas condições de processo e submetidas às mesmas análises citadas. As amostras foram apresentadas da seguinte forma: 1- amostra sem clarificante (SC); 2- amido de milho oxidado 1% (MiO (1%)); 3- amido de milho oxidado 2% (MiO (2%)); 4- amido de mandioca oxidado 1% (MaO (1%)); 5- amido de mandioca oxidado 2% (MaO (2%)); 6- goma carragena (GCar); 7- amido de milho fosfatado baixo (2,8%) (MiFB); 8- amido de milho fosfatado alto (8,6%) (MiFA); 9- amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%) (MaFB); 10- amido de mandioca fosfatado alto (8,6%) (MaFA).

#### 4.5.2 Produção das cervejas

A fabricação de cerveja artesanal foi baseada na metodologia descrita por Szwajgier e Bancarzewska (2011). O malte seco e em grãos foi moído em moinho de disco. Em seguida, em uma panela de inox, adicionou-se água potável sem cloro com o pH regulado para 5,3 (3 L/Kg de malte) e, o malte moído foi colocado lentamente, iniciando-se o processo de mosturação. A mistura foi submetida ao aquecimento até 60 °C por 70 minutos. Esta etapa visa privilegiar a ação da beta amilase, que produz maltose. Após, elevou-se a temperatura para 70 °C por 30 minutos, para favorecer a alfa amilase que produz dextrina (responsável pelo corpo da cerveja). Aumentou-se a temperatura para 76 °C por 10 minutos, para ocorrer a inativação das enzimas alfa e beta amilase. Todo esse processo foi mantido sob constante agitação. O Gráfico 1 que ilustra o processo de mosturação.

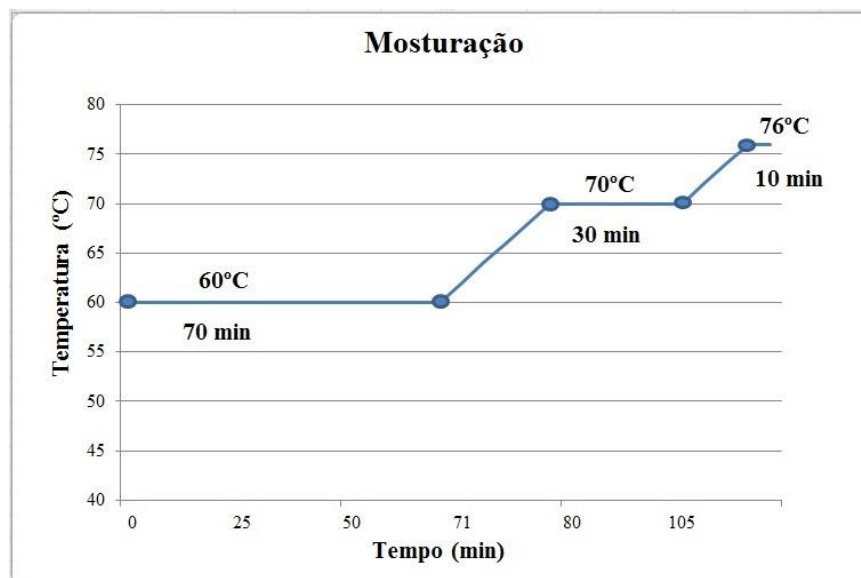


Gráfico 1. Gráfico de mosturação temperatura (°C) / Tempo (min).

O mosto foi separado do bagaço de malte por processo convencional de filtração e a torta de filtro lavada com água a 76°C (2 L/Kg de malte). O líquido recuperado foi retornado ao recipiente de inox e submetido à fervura por 20 minutos, promovendo a desnaturação proteica. Após isso, foi adicionado 1,0 g/L de lúpulo tipo amargor, e esse ponto foi considerado o tempo zero da lupulagem. A fervura ocorreu por 1 hora.

O mosto foi dividido igualmente em dez recipientes. Para cada recipiente foram adicionados 0,8 g/L de lúpulo tipo aromático e os amidos modificados na concentração de 0,1 g/L. Na formulação controle foi adicionado a goma carragena na concentração de 0,067 g/L e na amostra sem clarificante nada foi adicionado. Todos os mostos foram agitados de forma circular e uma alíquota foi retirada para a realização do teste rápido.

As amostras ficaram em descanso por 20 minutos para a decantação das proteínas e, após, o sobrenadante foi separado diretamente para o recipiente fermentador. Foi necessário resfriar o mosto rapidamente para evitar contaminação de microrganismos. Em todos os tratamentos foram adicionados o fermento na forma de "inóculo pré-ativado", na concentração de 0,38 gramas de levedura seca/litro de mosto (m/m) em relação ao produto final, à temperatura de 25°C. Os recipientes fermentadores foram tampados com batoques hidráulicos e deixados em repouso, fermentando sob temperatura de 25°C durante sete dias, em local com baixa luminosidade. A maturação foi realizada por 14 dias em câmara frigorífica regulada a temperatura 10°C.

No engarrafamento, as garrafas, previamente lavadas e sanitizadas com vapor, foram preenchidas até 5 mL antes do gargalo. Para a carbonatação foram adicionados em cada

garrafa 10,0 mL de solução de açúcar comercial (0,48 g/mL) (formação do gás carbônico na cerveja) previamente fervida. As garrafas foram armazenadas de pé em local com pouca luminosidade e temperatura de 25°C, durante 7 dias. Após este prazo, as cervejas permaneceram a temperatura de 5°C à espera das análises físico-químicas. A Figura 5 representa o fluxograma do processo da produção da cerveja artesanal com aplicação dos amidos modificados como agentes clarificadores.

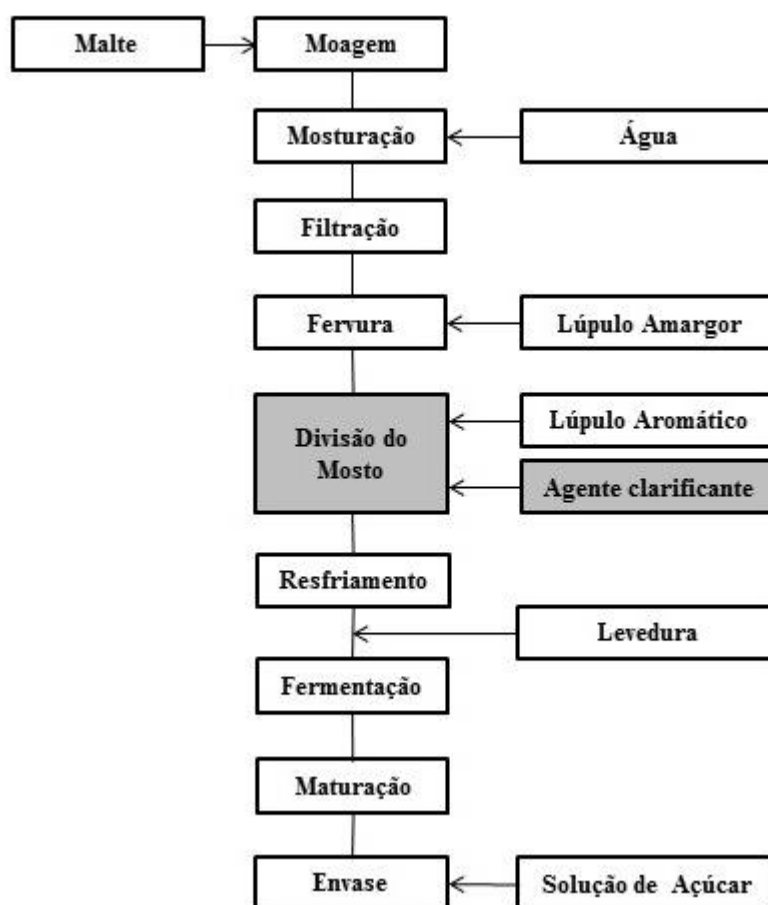


Figura 5. Fluxograma do processo de produção de cerveja artesanal com aplicação de amidos modificados como clarificadores.

#### 4.6 ESTRATÉGIA

Para avaliar a suposta precipitação de proteínas e clarificação do mosto, foram coletadas alíquotas de cada ensaio em pontos específicos do processo e, as mesmas foram submetidas a análises. Logo após a fervura do mosto e adição do composto clarificante, uma amostra foi coletada para a realização do Teste Rápido. Os pontos selecionados para avaliação foram:

- Mosto Quente: Amostra coletada ao fim da fervura e adição do clarificante.

- Mosto Frio: Amostra coletada do Teste Rápido e deixada a 12°C por 12 horas.
- Final da Fermentação: Amostra coletada após sete dias de fermentação (25°C).
- Final da Maturação: Amostra coletada após 14 dias em temperatura de 10°C
- Produto acabado: Amostra coletada após 21 dias de engarrafamento.

#### 4.6.1 Teste Rápido

Este teste foi realizado a partir do método rápido proposto por Ward e Leather (1995) (Figura 6). Neste método, ao término da fervura, adicionou-se o composto clarificante e a mistura foi agitada cuidadosamente por cinco minutos. Uma alíquota de mosto foi recolhida e colocada em uma proveta de 250 mL. O líquido foi deixado em repouso para permitir a sedimentação a quente. Os efeitos que foram observados e registrados em 10 e 20 minutos (hot break). Após, uma amostra deste mosto foi coletado e colocado em proveta de 50 mL. A amostra foi resfriada com agitação ocasional, seguido de descanso por 12 horas a 10°C para observar a clarificação a frio (cold break). Este procedimento foi realizado igualmente para todos os tratamentos.

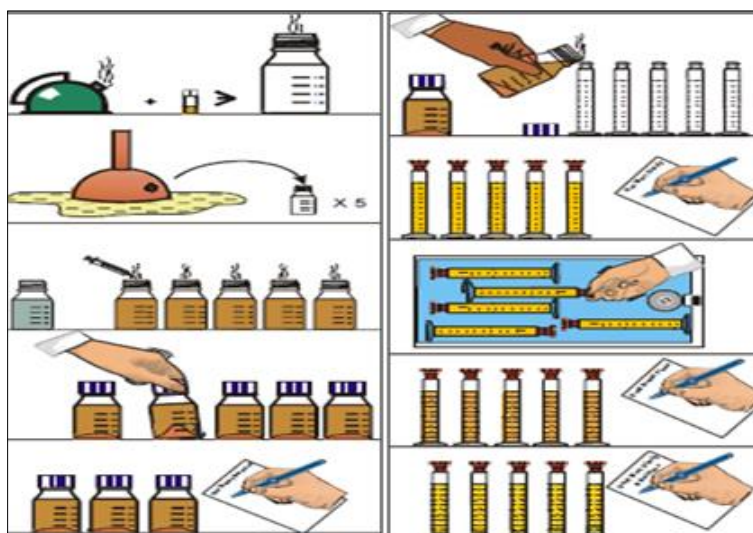


Figura 6. Ilustração do teste rápido proposto por Ward e Leather.

#### 4.6.2 Determinação de compostos fenólicos totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu segundo metodologia de Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. As análises foram realizadas em triplicata. Foram pipetados 30 µL da amostra, 2370 µL de água destilada, e 150 µL de Folin-Ciocalteu. Após 2 minutos de repouso, adicionou-se 450 µL de solução de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 15%. As soluções foram incubadas ao abrigo da luz por 2 horas para completa reação. A seguir, a absorbância foi lida

a 765 nm em espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited, Beijing, China) previamente calibrado contra o branco. Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico ( $y=0,001x + 0,0005$ ;  $R^2=0,9939$ ) e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg EAG.L<sup>-1</sup>).

#### 4.6.3 Quantificação de flavonóides totais

O conteúdo de flavonóides totais foi quantificado pelo método colorimétrico proposto por Chang et al. (2002), onde foram misturados 250 µL de amostra com 1250 µL de água destilada e 75 µL de nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) 5%. Após 6 minutos em repouso, acrescentou-se 150 µL de cloreto de alumínio hexaidratado (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O) a 10%. Esperou-se 5 minutos em repouso e foram adicionados 500 µL de hidróxido de sódio (NaOH) a 1 M e 275 µL de água destilada e a absorbância foi lida contra o branco a um comprimento de onda de 510 nm utilizando um espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited, Beijing, China). Os resultados foram interpolados com a curva de calibração de catequina ( $y=0,002x + 0,0437$ ;  $R^2=0,9961$ ) e expressos em miligramas de equivalentes de catequina por litro de cerveja (mg EC.L<sup>-1</sup>). A análise foi feita em triplicata e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

#### 4.6.4 Doseamento de proteínas pelo método Biureto

A quantificação de proteínas pelo método de biureto foi realizada baseada na metodologia proposta por Gornall, Bardawill e David (1949). Foram pipetados 500 µL da amostra, 2500 µL de reagente de biureto. A solução foi incubada por 15 minutos a 37°C. Logo após, leu-se a absorbância a 540 nm em espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited, Beijing, China) previamente calibrado contra o branco (reagente de biureto). Os valores de proteína foram interpolados através da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de extrato protéico BSA ( $y = 0,002x + 0,0302$ ;  $R^2=0,9976$ ) e expressos em miligramas de equivalente de BSA por litro (mg BSA.L<sup>-1</sup>). As análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.6.5 Turbidez

Para a medição da turbidez, uma alíquota de 10 mL de cerveja a 20°C foi submetida ao equipamento turbidímetro HI 98713-02 (ISO 7027), previamente calibrado. Este aparelho detecta a turbidez usando o método de dispersão de luz e de luz transmitida, seguindo o



princípio de que a turvação é originada mediante substâncias dispersas não solúveis num líquido. Um líquido com turvação tem a propriedade de dispersar e refletir a luz irradiada sobre o mesmo. A medição deste aparelho utiliza a unidade de turvação em NTU (Nephelometric Turbidity Unit).

#### 4.6.6 Espectrofotometria

Para realização de espectrofotometria seguiu-se o método descrito por Dale, Tran e Lyddiatt (1995). Foi coletada uma alíquota da superfície e a turbidez foi avaliada através da medição da absorvância a um comprimento de onda de 600 nm utilizando um espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited, Beijing, China) em relação a um branco de água destilada.

#### 4.6.7 Viscosidade relativa

A viscosidade relativa foi determinada através dos tempos de fluxos (segundos) da amostra de cerveja submetida a um viscosímetro Cannon-Fenske n. 50, mantido em banho térmico de água a 30 °C, seguindo o método 947.07 da AOAC (2000). Como branco foi utilizada a água destilada. A viscosidade relativa foi obtida por meio da Equação 7, onde  $t$  corresponde ao tempo de escoamento da solução e  $t_0$  ao tempo de escoamento do solvente puro.

$$\eta_{rel} = \left( \frac{t}{t_0} \right) \quad (7)$$

### 4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA

As amostras das cervejas artesanais foram avaliadas físico-quimicamente no laboratório de análise de alimentos da UTFPR campus de Campo Mourão. Todas as amostras foram previamente descarbonatadas em banho-maria com ultrassom. As análises foram feitas em triplicata para maior confiabilidade e realizadas de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985).

#### 4.7.1 Análise de pH

Os valores de pH das formulações foram determinados utilizando-se um pHmetro modelo mPA-210, previamente calibrado com as soluções tampões pH 4 e pH 7. As amostras foram analisadas a temperatura de 25°C.

#### 4.7.2 Extrato real

O extrato real foi resultado da pesagem do resíduo seco de um volume de 10 mL de cerveja submetido à evaporação e o extrato real do obtido por meio da Equação 8, onde P corresponde a massa do resíduo, em g e V ao volume da amostra, em mL.

$$\text{Extrato real } \% \frac{m}{v} = \left( \frac{100 \times P}{V} \right) \quad (8)$$

#### 4.7.3 Extrato primitivo

O extrato primitivo em cervejas foi obtido por meio de cálculo envolvendo os valores de teor alcoólico e extrato real descrito na Equação 9, onde P corresponde ao % de álcool em peso e Er ao % de extrato real.

$$\text{Extrato primitivo, em } \% \frac{m}{m} = \left( \frac{[(P \times 2,088) + Er] \times 100}{V[100 + (P \times 1,066)]} \right) \quad (9)$$

#### 4.7.4 Grau real de fermentação

O grau real de fermentação foi calculado com base no percentual de álcool e extrato primitivo conforme a Equação 10, Onde A corresponde ao % de álcool em peso e C ao % de extrato primitivo.

$$\text{Grau de fermentação} = \left( \frac{100 \times A \times 2,0665}{C} \right) \quad (10)$$

#### 4.7.5 Acidez

A análise de acidez total foi realizada por meio da técnica de titulação com solução de NaOH 0,1N utilizando fenolftaleína como indicador. A acidez total, expressa em gramas de ácido láctico em 100 mL, foi obtida utilizando a Equação 11, Onde n corresponde ao volume gasto na titulação da solução de NaOH, em mL, M a molaridade da solução de NaOH, f ao fator de correção da solução de NaOH, MM a massa molar do ác. láctico (60g) e V ao volume tomado da amostra em mL.

$$\text{Acidez total em g de ác. láctico em 100mL} = \left( \frac{n \times M \times f \times MM}{10 \times V} \right) \quad (11)$$

#### 4.7.6 Teor alcoólico

O teor de alcoólico das cervejas foi determinado pela técnica de crioscopia (PLATA-OVIEDO, 2009). Inicialmente 25 mL de cerveja, previamente descarbonatada, foram destilados até completar um volume aproximado de 50 mL, através de arraste de vapor. Logo após, o líquido foi colocado em um balão volumétrico de 100 mL e completado com água destilada até o menisco. Neste caso o fator de diluição de amostra foi quatro. O ponto de congelamento da amostra diluída foi determinado em aparelho Crioscópio MC 5400. O teor alcoólico das cervejas foi quantificado através da equação da curva de calibração, mostrada abaixo, que relaciona o teor de etanol (% v/v) com a diminuição no ponto de congelamento. A curva de calibração foi elaborada com teores etanol de 0,8 a 2,8% v/v ( $y = [(2,944467 \times \Delta t \text{ } ^\circ\text{H}(\text{diminuição do ponto de congelamento})) + 0,021435] \times \text{fator de diluição}$   $R^2=0,9989$ ;  $P < 0,001$ ) e expressos em %Etanol (v/v)). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância ao nível de 95% de confiança ( $p \leq 0,05$ ) usando o software STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma., E.U.A.). Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS MODIFICADOS

#### 5.1.1 Teor de grupos carboxílicos e carbonílicos

O teor de grupos carboxílicos e carbonílicos das amostras podem ser visualizados na Tabela 2.

**Tabela 2. Percentual médio de teor de grupos carboxílicos e grupos carbonílicos das amostras avaliadas.**

Amostra	COOH (%)	-(C=O)-(%)
MiO (1%)	0,086 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,025 ± 0,01 <sup>d</sup>
MiO (2%)	0,164 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,075 ± 0,01 <sup>b</sup>
MaO (1%)	0,099 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,055 ± 0,01 <sup>c</sup>
MaO (2%)	0,186 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,139 ± 0,02 <sup>a</sup>

MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ).

O processo de oxidação é produzido pela reação do amido com quantidade específica de reagente em pH e temperatura controlados e sua eficiência depende desses fatores (WANG e WANG, 2003; SÁNCHEZ-RIVERA et al., 2005; SANDHU et al., 2008). Esta modificação pode ocorrer por inúmeros agentes químicos (KUAKPETOON & WANG, 2001; KUAKPETOON & WANG, 2008; DIAS et al., 2007; TAVARES et al., 2010; SINGH et al., 2007), sendo o hipoclorito de sódio o mais utilizado (KUAKPETOON, WANG, 2006).

Na reação de oxidação os grupos hidroxilas das moléculas de amido são primeiramente oxidados a grupos carbonila e, posteriormente, a grupos carboxila (ABDEL-HAFIZ, 1995; RICHARDSON, GORTON, 2003). Portanto, as porcentagens de oxidação desses grupos indicam o nível de oxidação (KUAKPETOON e WANG, 2008). Quanto aos resultados obtidos dos grupos carboxilas, para ambas as fontes botânicas observa-se aumento do teor desse grupo com o aumento da concentração de 1% para 2% do agente oxidante, não havendo diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as fontes botânicas para uma mesma concentração de cloro ativo. Observa-se também que o hipoclorito de sódio introduziu uma quantidade maior de grupos carboxilas quando comparado com os grupos carbonilas, privilegiando a oxidação dos grupos hidroxilas para grupos carboxilas, fato este informado por diferentes pesquisadores (SANGSEETHONG et al., 2009; KUAKPETOON, WANG, 2001; WURZBURG, 1986). Para os resultados de formação de grupos carbonílicos o amido de mandioca foi mais susceptível, diferindo significativamente ( $p \leq 0,05$ ) do amido de milho nas duas concentrações estudadas.

Os teores de carboxilas encontrados para os amidos oxidados nesta pesquisa ficaram entre 0,086% ( $\pm 0,01\%$ ) e 0,186% ( $\pm 0,02\%$ ). Na literatura, Spier (2010) encontrou valores semelhantes (0,09%) para o teor de carboxila em amido de milho oxidado. Liu et al., (2014) encontraram teores entre 0,039% e 0,166%, enquanto a pesquisa de Chávez-Murillo et al. (2008) apresentou resultados próximos a 0,09% ao oxidar amido com hipoclorito de sódio (2%). Já para os teores de carbonila os valores ficaram entre 0,025% ( $\pm 0,01\%$ ) e 0,139% ( $\pm 0,02\%$ ). Valores dentro deste parâmetro (0,079% a 0,152%) foram encontrados por Chong et al., (2013) e por Chávez-Murillo et al. (2008) que encontraram um teor de carbonila próximo de 0,160%.

A partir da porcentagem de radicais carboxílicos formados, o amido obtido pode ser chamado de oxidado ou branqueado. Segundo Taggart (2004), os amidos branqueados contêm menos de 0,1% de radicais carboxílicos adicionados, mostrando que as condições de oxidação utilizadas foram brandas.

### 5.1.2 Teor de grupos fosfatos

O teor de fósforo residual obtido nas amostras de amido de milho e mandioca pode ser observado na Tabela 3.

**Tabela 3. Teor médio de fósforo obtido após a modificação por fosfatação em diferentes concentrações de tripolifosfato de sódio no amido de milho e mandioca.**

<b>Amostra</b>	<b>Fósforo (%)</b>
AMiN	0,004 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
MiFB	0,014 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
MiFA	0,072 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
AMaN	0,003 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>
MaFB	0,015 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
MaFA	0,069 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>

AMiN, amido de milho nativo; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); AMaN, amido de mandioca nativo; MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%). Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ).

Um dos tipos de modificação química mais utilizada com amidos naturais é a fosfatação com o tripolifosfato de sódio (TPS) (CEREDA, 2003), por ser um método simples, de baixo custo e de eficientes resultados (ZHOU et al., 2002). Esta reação ocorre pela introdução de grupos fosfatos nas cadeias de amido, deixando-o negativamente carregado (KARIM, 2007) e causando a repulsão entre as cadeias (LIU et al., 1999), sendo o binômio tempo-temperatura fator decisivo para a modificação química apropriada (CRUZ, EL DASH,

1984; PEREIRA, 2008). A fosfatação do amido afeta drasticamente sua capacidade coloidal e devido as suas propriedades iônicas (CEREDA, VILPOUX, DEMIATE, 2003), amidos fosfatados são bons agentes emulsificantes (WATTANCHANT et al, 2003).

Em alimentos, estabelece-se um limite de fósforo residual de 0,4% (FAO, 2015). A norma brasileira, através da resolução RDC 234/2002 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), permite uma concentração residual de 0,1% de fósforo (BRASIL, 2002).

Através dos resultados apresentados, pode-se observar que os amidos nativos estudados (milho e mandioca) possuem baixo teor de fósforo (0,004 – 0,003%), semelhante com os resultados encontrados por Pereira (2011). Entretanto, os teores de fósforos para as amostras modificadas foram superiores à da amostra nativa, indicando que o processo foi efetivo para promover a ligação do fósforo com o amido. Ao comparar as fontes botânicas, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) quando utilizou-se a mesma quantidade de reagente, mas o teor de fósforo aumentou com o incremento de tripolifosfato de sódio para as duas fontes estudadas. O mesmo comportamento foi relatado por diversos autores (SCHMIDT & CABELLO, 2009; LIM & SEIB, 1993; MUHAMMAD, 2000; PEREIRA, 2008; ZHAO et al., 2015; LEE et al., 2009; ABSAR et al., 2009; CHUNG & LAI, 2006; LAWAL et al., 2005; ATICHOKUDOMCHAI et al., 2004).

As porcentagens de fósforo identificadas nos amidos fosfatados variaram de 0,014% ( $\pm 0,01\%$ ) a 0,072% ( $\pm 0,01\%$ ). Outros autores relataram valores parecidos em suas pesquisas, Batista et al., (2010) modificaram amido de milho e trigo utilizando diferentes concentrações (2,5; 5; 10 e 15%) de tripolifosfato de sódio, e obtiveram resultado entre 0,005% e 0,10% de fósforo. Na pesquisa feita por Pereira (2008), ao variar o tempo de reação e a concentração de reagente, encontrou teores entre 0,015% e 0,092%. Em 2015, Zhao et al., modificou amido de batata doce e conseguiu grau de substituição entre 0,017% e 0,026% de fósforo. Ribeiro (2011) apresentou valores entre 0,08% e 0,09% em seu estudo com amido de mandioca. Rechsteiner (2009) ao variar o tempo de reação entre 2 e 6 horas com uma concentração de 5% de reagente obteve uma incorporação de fósforo entre 0,06% e 0,074% no amido de mandioca. Koo, Lee e Lee (2010) ao modificar amido de milho com diferentes concentrações de reagente (5, 10 e 12%) perceberam que houve acréscimo no grau de ligações cruzadas a medida em que as concentrações dos reagentes eram aumentadas. Já Carmona-Garcia et al. (2009) modificaram amido de banana e conseguiram um valor de 0,09 e 0,2% de fósforo, valores superiores ao dessa pesquisa.

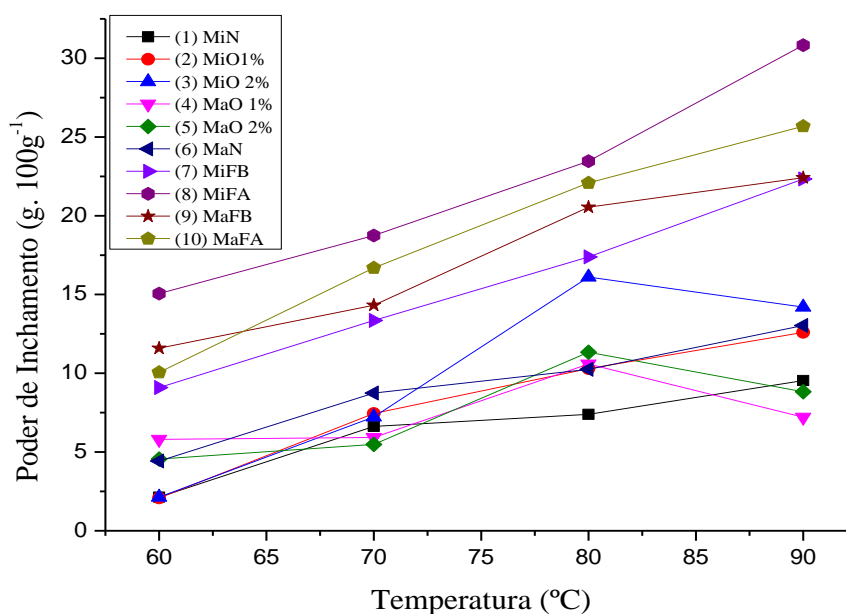
Sendo assim, pode-se afirmar que os amidos modificados por fosfatação alcançaram o objetivo de ficar negativamente carregado em diferentes teores, cumprindo os limites estipulados para uso em alimentos.

### 5.1.3 Poder de inchamento (PI) e solubilidade (SOL)

O poder de inchamento e solubilidade variam de acordo com a fonte dos domínios amorfos e cristalinos (SINGH et al., 2003) e sua determinação é realizada em temperaturas elevadas (LIMBERGER et al., 2008). Com o aquecimento do sistema, o aumento na capacidade de absorção de água é favorecido, e a rede micelar do amido é enfraquecida devido ao rompimento das ligações de hidrogênio, ocorrendo com isto, inchamento do grânulo e solubilização do amido (SWINKELS, 2002; DINIZ, 2006). A elevada capacidade de ligação dos grânulos com água é atribuída à perda de associação dos polímeros do amido no grânulo nativo ou modificado (WOOTTON, BAMUNUARACHCHI, 1978).

#### 5.1.3.1 Poder de inchamento (PI)

Os valores do poder de inchamento estão representados no Gráfico 2, construído a partir de dados contidos no Anexo 1.



**Gráfico 2. Poder de inchamento médio obtido após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.**

Ao observar o gráfico, percebe-se que os amidos nativos apresentam um PI baixo e após 70°C não tem muita variação de comportamento, sendo que o amido de milho e mandioca não tiveram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) com o aumento da temperatura. O

amido de milho oxidado 1% (amostra 2) apresentou-se de forma semelhante aos amidos nativos, tendo um leve aumento no PI, entretanto não diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ), sugerindo que esta amostra apesar de ser modificada não serve para aplicações que dependem do aumento do poder de inchamento.

Para as amostras 3, 4 e 5, pode-se observar um comportamento parecido, onde ocorreu um aumento no PI entre 60°C a 80°C e logo após um decréscimo (90°C), sendo que a amostra 3 é a que mais apresenta variação nessa faixa de temperatura (60 e 80°C). Estes resultados estão de acordo com os encontrados em um estudo feito por Lawal et al., (2005) que constataram uma redução no poder de inchamento ao analisar o efeito da modificação ácida e oxidativa em amido de milho. Segundo eles, a redução do poder de inchamento após oxidação ocorre devido uma desintegração estrutural dentro do grânulo de amido durante o processo de modificação. No estudo realizado por Spier (2010), pode-se verificar que as amostras de amidos oxidados 1% e 2% de hipoclorito de sódio apresentaram resultados parecidos com os obtidos nessa pesquisa.

Dentre essas três amostras citadas acima, a amostra 3 (MiO 2%) apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) na temperatura de 80°C, onde alcançou o ápice de PI e, logo após, houve um decréscimo, ficando estatisticamente igual as amostras 4 e 5. Essa diferença acontece porque os amidos de raízes e tubérculos possuem baixa temperatura de pasta, baixa resistência ao atrito mecânico e baixa tendência a retrogradação quando comparados com amido de cereal normal, sendo estas propriedades atribuídas à ausência de lipídeos e fosfolipídeos (LIM, KASEMSUWAN, JANE, 1994). Esse comportamento foi citado por Wang e Wang (2003), que oxidou amido de milho e obteve um aumento no poder de inchamento em temperaturas de 75 e 85°C, no entanto foi reduzido quando avaliado a 95°C. Esses pesquisadores explicam que em baixas concentrações de hipoclorito de sódio a amilose é preferencialmente hidrolisada, auxiliando no aumento do poder de inchamento nas temperaturas de incubação de 75 e 85°C. Mas, em maiores concentrações de oxidante em que a amilopectina é também hidrolisada, o amido perde a habilidade de absorver água, reduzindo o poder de inchamento principalmente em temperaturas extremas como 95°C.

Já a modificação química do amido por fosfatação (amostras 7, 8, 9 e 10) caracteriza-se por aumentar o poder de inchamento e a solubilização dos grânulos (SCHIRMER, TOLEDO, REYS, 1986; SIVAK & PREISS, 1998; SITOHY et al., 2000).

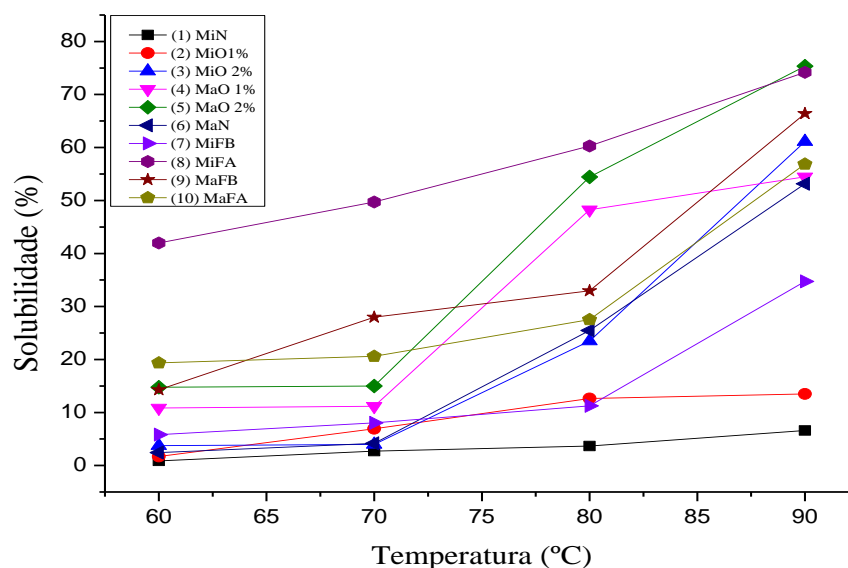
Segundo Cereda (2003), a fosfatação possibilita alterações físicas e reológicas do amido nativo como o aumento do poder de inchamento, formando ligações cruzadas que reforçam as ligações de hidrogênio naturais, retardam a velocidade de absorção de água do



grânulo, intumescem e reduzem a sensibilidade do grânulo intumescido à ruptura. Os amidos fosfatados tiveram comportamento de constante aumento no PI conforme a temperatura foi aumentada, sendo que o amido de milho (amostras 7 e 8) teve maior variação quando a concentração do reagente foi aumentada, diferindo estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) nas temperaturas de 60, 70 e 80°C. Nabeshima & El-dash (2004) em seus estudos concluíram que presença de ligação cruzada aumenta a resistência ao inchamento e à gelatinização do grânulo de amido. Valores semelhantes foram encontrados por Nwokocha et al. (2009). Em um estudo feito por Singh, Kaur, McCarthy (2007), citam que a esterificação aumenta o poder de inchamento do amido. Sitohy (2000), e Limberger et al. (2007) afirmam que a introdução de grupos fosfato nos grânulos de amido pode reduzir as forças intermoleculares de ligação, devido à repulsão dos grupos fosfato negativamente carregado nas moléculas de amido, aumentando o poder de inchamento.

### 5.1.3.2 Solubilidade (SOL)

Os resultados obtidos na análise de solubilidade (Anexo 2) estão apresentados no Gráfico 3.



**Gráfico 3. Solubilidade após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.**

A solubilidade representa a quantidade de moléculas de amido solubilizadas a uma determinada temperatura (SPIER, 2010). E em geral, aumenta com a modificação química com o acréscimo na temperatura de incubação. Quando o amido é aquecido em excesso de água, acima da temperatura de empastamento, a estrutura cristalina é rompida devido ao relaxamento de ligações de hidrogênio e as moléculas de água interagem com os grupos

hidroxilas da amilose e da amilopectina. Isso causa um aumento do tamanho dos grânulos devido ao inchamento e também ocorre parcial solubilização (HOOVER, 2001).

De acordo com o gráfico 3, pode-se observar que o amido de milho nativo tem baixa solubilidade entre a temperatura de 60 a 90°C. A amostra 2 apresentou o mesmo comportamento do amido de milho nativo, não diferindo significativamente ( $p \leq 0,05$ ) (tabela 5). Segundo Biliaderis (1991) os grânulos de amidos nativos são insolúveis em água abaixo da temperatura de gelatinização. Eles expandem um pouco em água fria (10 a 20%), mas essa expansão é limitada por ser severamente restringida pelas camadas essencialmente contínuas de amilopectina cristalina (MORRISON, 1995). Já o amido de mandioca nativo apresentou elevada solubilidade a partir de 70°C. Segundo Cereda et al. (2002), essa reação acontece porque amidos ricos em amilose mostram solubilidade restrita, mesmo após um período prolongado de aquecimento. Para comprovar isso, Sandhya, Rani e Bhattacharya (1989) mostraram que grânulos de amido com baixa quantidade de amilose são menos rígidos e absorvem mais água quando aquecidos.

Ao observar amostra 3, percebe-se um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) teor de solubilidade a partir de 70° a 90°C, que pode ser justificado pela despolimerização e enfraquecimento do grânulo de amido devido a modificação mais severa. Este resultados está de acordo com os encontrados por Lawal et al. (2005) que ao estudar o efeito da modificação ácida e oxidativa em amido de milho constataram um aumento na solubilidade promovida por estas modificações químicas em comparação ao amido não modificado.

Para as amostras 4 e 5, percebe-se um comportamento semelhante entre 60°C e 80°C. A partir disso, a amostra 5 difere significativamente ( $p \leq 0,05$ ), ocorrendo aumento na solubilidade entre 80 e 90°C. Isso pode ser explicado pelo aumento de reagente na modificação por oxidação, fazendo com que os grupos hidroxilas da molécula de amido possam reagir com o grupo carboxílico livre, formando íons carboxilato ( $\text{COO}^-$ ), aumentando a solubilidade do amido (CHIN; PANG; LIM, 2012). Este resultado pode ser comparado ao encontrado por Wang e Wang (2003) que ao oxidar amido de milho, variando a concentração de hipoclorito de 0 a 3% encontraram um aumento substancial na solubilidade com o incremento na concentração de hipoclorito de sódio, apresentando valores de 7,9% a 66,3% respectivamente, na temperatura de 95°C.

Embora a temperatura de 60°C esteja abaixo da temperatura de gelatinização, uma pequena quantidade de moléculas de amido são capazes de se lixiviar, presumidamente moléculas de amilose (SPIER, 2010). Essa afirmação pode ser observada claramente na

amostra 8, que expressa um incremento na solubilidade desde 60°C, aumentando com a variação da temperatura, demonstrando eficiência na modificação por fosfatação.

Apesar das amostras 7, 9 e 10 apresentarem diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), ocorreu aumento do índice de solubilidade que pode ser atribuído à lixiviação da cadeia de amilose, após o tratamento com tripolifosfato de sódio e o tempo de reação, permitindo os grânulos absorverem mais água que o amido nativo. Em estudos realizados, Limberger et al., (2008) e Lawal et al. (2005) constataram o mesmo comportamento.

No geral, a solubilidade foi aumentada em todas as temperaturas avaliadas (60°C, 70°C, 80°C e 90°C), sendo que a amostra 2 não atendeu a expectativa, apresentando um resultado próximo ao amido de milho nativo.

#### 5.1.4 Viscosidade intrínseca

As propriedades físicas de polímeros de amido podem ser caracterizadas através do peso molecular e distribuição do peso molecular (ISLAM et al., 2001). A viscosidade intrínseca é essencialmente uma medida da fricção interna ou resistência ao deslocamento de moléculas altamente poliméricas em solução (FRANCO, CABRAL, TAVARES, 2002), que se utilizada adequadamente, pode fornecer um excelente critério de tamanho molecular relativa. Através dos tempos de escoamentos obtidos, primeiramente foram determinadas as viscosidades específicas e posteriormente a viscosidade intrínseca para os amidos de milho e mandioca nativos e modificados e os resultados estão demonstrados na Tabela 4.

**Tabela 4. Viscosidade intrínseca após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.**

Amostras	Viscosidade intrínseca (dL.g <sup>-1</sup> )
1. AMiN	1,95 ± 0,02 <sup>d</sup>
2. MiO (1%)	0,98 ± 0,02 <sup>g</sup>
3. MiO (2%)	0,69 ± 0,02 <sup>j</sup>
4. MaO (1%)	0,93 ± 0,02 <sup>h</sup>
5. MaO (2%)	0,73 ± 0,01 <sup>i</sup>
6. AMaN	2,55 ± 0,01 <sup>b</sup>
7. MiFB	1,90 ± 0,01 <sup>e</sup>
8. MiFA	2,52 ± 0,01 <sup>c</sup>
9. MaFB	1,83 ± 0,02 <sup>f</sup>
10. MaFA	2,60 ± 0,01 <sup>a</sup>

AMiN, amido de milho nativo; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. AMaN, amido de mandioca nativo; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

Os valores de viscosidade intrínseca variaram de 0,69 dL.g<sup>-1</sup> a 2,60 dL.g<sup>-1</sup>, sendo que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre todas as amostras. Para o amido de mandioca nativo, encontrou-se um valor de 2,55 dL.g<sup>-1</sup>. Na literatura, Plata-Oviedo e Camargo (1999) apresentaram resultados parecidos (2,57 dL.g<sup>-1</sup>). Já Ciacco e Cruz (1982) encontraram o valor de 2,45 dL.g<sup>-1</sup> e Ferrini (2006) chegou ao valor de 2,36 dL.g<sup>-1</sup>. Para o amido de milho nativo, o resultado obtido foi mais baixo (1,95 dL.g<sup>-1</sup>), concordando com a pesquisa de Mishra e Tai (2005) que obtiveram o valor de 1,88 dL.g<sup>-1</sup> para a viscosidade intrínseca determinada a 20 °C para o amido de milho nativo e Ferrini (2006) que conseguiu o resultado de 1,85 dL.g<sup>-1</sup>. A partir das modificações, pode-se notar que a oxidação diminuiu a viscosidade intrínseca, sendo a redução mais drástica com o aumento da concentração do agente oxidante. Sangseethong et al., (2009) defendem que as características dos amidos são influenciadas pelas condições de oxidação. Em geral, com o aumento da concentração de hipoclorito observa-se a diminuição da viscosidade intrínseca (CHATTOPADHYAY; SINGHAL; KULKARNI, 1997). Resultados semelhantes foram constatados por Franco, Cabral e Tavares (2002), que analisaram a viscosidade intrínseca do amido e de mandioca nativo antes e após modificação e observaram que houve uma extensiva degradação dos grânulos de amido. Os resultados dessa pesquisa sugerem que o amido de mandioca foi mais susceptível a degradação oxidativa observando maior queda da viscosidade intrínseca, enquanto que para o amido de milho a redução foi menor.

Para a fosfatação, percebe-se um aumento na viscosidade intrínseca em altas concentrações de tripolifosfato de sódio. Nesta modificação, os resultados obtidos variaram de 1,83 a 2,60 dL.g<sup>-1</sup>. Em baixa concentração de reagente, percebeu-se uma queda significativa na viscosidade intrínseca e em alta concentração um aumento. Sugere-se que esse comportamento ocorreu porque a viscosidade de uma solução de polissacarídeos depende da forma e do tamanho de sua molécula e, quando estão em solução, os polissacarídeos giram livremente, ocupando um espaço que é conhecido como “volume efetivo” (PEREDA et al., 2005). É provável que na fosfatação alta a maior carga negativa provocou o afastamento entre as macromoléculas de amilopectina e amilose e o desenrolamento desta última passando a ocupar mais espaço, chocando-se umas com as outras, produzindo uma fricção que aumenta a viscosidade.

## 5.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DA CERVEJA

A obtenção de cerveja é um processo relativamente simples, porém a qualidade do produto depende de muitos fatores, sendo um processo que requer cuidados, tecnologia e

conhecimento (ZUPARDO, 2010). O equilíbrio sensorial e aparência translúcida definem a aceitação e qualidade da bebida.

Infelizmente, os estudos realizados para clarificação de cerveja artesanal ainda são limitados. Além disso, é difícil comparar dados de literatura, devido a falta de concordância sobre o método adequado para as análises (ZHAO et al., 2010) e a divergência entre os resultados encontrados. Fumi, Galli e Donadini (2006) citam a mesma dificuldade, pois os procedimentos utilizados são diferentes entre as pesquisas, os autores focam em um único composto, ou concentram-se em etapas selecionadas.

### 5.2.1 Teste rápido

Durante o processo de ebulição do mosto (hot-break), ocorre a desnaturação térmica das proteínas, resultando em sua coagulação. Este processo é favorecido por um pH elevado do mosto, pela presença de proteína suficiente, boas condições de fervura do mosto, e duração de no mínimo uma hora. Sob estas condições, formam-se grandes flocos que são facilmente removidos do mosto. Nessa etapa, também são extraídos compostos fenólicos do lúpulo, que desempenham papel importante na formação do cold-brak. Se coagulação é ineficiente, flocos finos serão formados que podem permanecer em suspensão e ser transportados para as fases a subsequentes do processo de fabricação de cerveja (WARD, 2015). Os resultados de hot-break e cold-break obtidos nessa pesquisa encontram-se na Tabela 5.

**Tabela 5. Resultados do teste rápido: Hot-break e Cold-break.**

Amostras	Hot Break (Proveta de 250 mL)		Cold Break (Proveta 50 mL)
	10 minutos	20 minutos	24 horas
1. SC	182	184	-
2. MiO (1%)	194	202	49
3. MiO (2%)	196	206	47
4. MaO (1%)	204	206	45
5. MaO (2%)	200	204	45
6. GCar	204	215	40
7. MiFB	200	208	47
8. MiFA	192	204	-
9 MaFB	186	200	49
10. MaFA	190	202	-

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

De acordo com os valores encontrados nessa pesquisa, compreende-se que a goma carragena teve maior eficiência na eliminação de proteínas, destacando-se das amostras

contendo amidos modificados. Como este é um teste qualitativo, visualmente, esse resultado demonstra a maior capacidade de clarificar o mosto cervejeiro nas etapas hot-break e cold-break.

Seguido da amostra controle (carragena), as amostras 3, 4 e 7 revelaram potencial clarificante maior que os demais amidos. Contudo, ao comparar todos os mostos contendo amidos modificados com o mosto sem clarificante, nota-se uma grande diferença, sugerindo que mesmo que os amidos modificados não tenham atingido resultados semelhantes ao controle (amostra 6), podem ter potencial para clarificar a cerveja.

### 5.2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos destacam-se pelas suas diversas propriedades funcionais (NAKAMURA et al., 2012). Estes compostos têm grande importância tecnológica nas cervejarias, devido a sua influência na estabilidade coloidal e capacidade de interação com proteínas. Apresentam também elevada estabilidade oxidativa, tendo ação antioxidante (MARTINEZ et al., 2009) em substâncias como proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos (MOREIRA, MANCINI-FILHO, 2003).

No Gráfico 4 é ilustrado o comportamento dos amidos modificados e da goma carragena quanto a remoção de compostos fenólicos em diferentes etapas do processo de obtenção da cerveja. Os valores são apresentados também no Anexo 3.

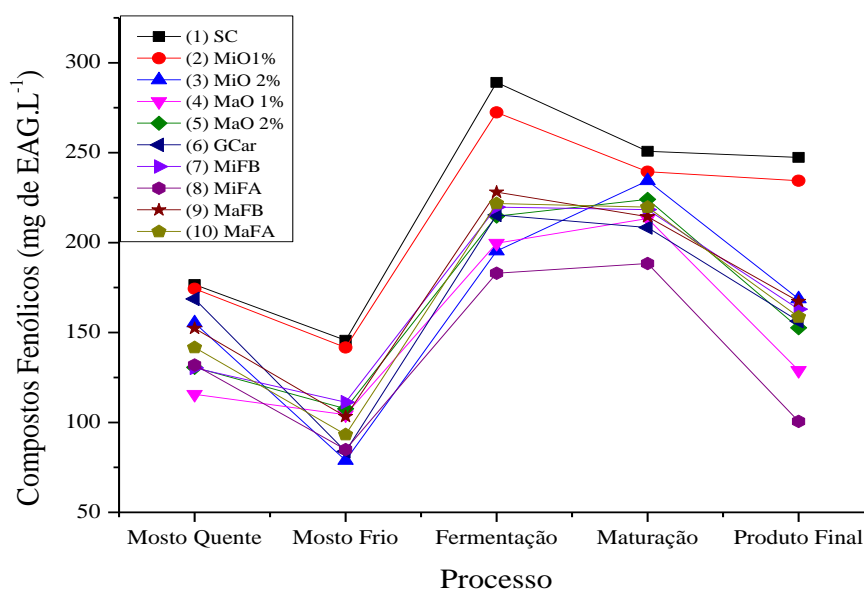


Gráfico 4. Compostos fenólicos durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.

O gráfico apresenta um comportamento semelhante entre as amostras, mas em

proporções diferentes. Entre o mosto quente e o mosto frio, percebe-se uma queda nos valores de compostos fenólicos. Esta situação pode ser explicada por Crompton e Hegarty (1991), que descreve que o mosto quente é composto de elevada quantidade de proteína que formam coágulos e precipitam, formando o “trub” no fundo do recipiente. Por muito tempo acreditou-se que os polifenóis também estavam envolvidos nessa reação, mas o complexo proteína/polifenol, com base em ligações de hidrogênio, não é estável em 100°C. No entanto, abaixo de 80°C a interação proteína/polifenol torna-se cada vez mais estável, formando no mínimo 2,5% do material precipitado.

Logo após, durante a fermentação, pode-se notar um aumento significativo no teor de fenólicos, sugerindo que a presença da levedura para fermentar o mosto influencia na determinação de fenólicos. A agitação da levedura para se reproduzir e fermentar os açúcares pode dificultar a interação proteína/polifenóis, fazendo com que os compostos fenólicos que geralmente são encontrados ligados a outros compostos estejam em sua forma livre (MACIEL et al., 2013), aumentando os resultados e impedindo a precipitação destes componentes.

Observando o gráfico, após a fermentação principal, houve um decréscimo superficial no teor de compostos fenólicos. Siqueira, Bolini e Macedo (2008) justificam que cerveja não maturada ainda possui uma suspensão de leveduras e uma parte de material fermentescível, por isso passam por uma fermentação secundária chamada maturação. Esta etapa do processo contribui para a clarificação da cerveja e melhoria do seu sabor. Pode-se perceber que após essa fase é que ocorreu uma queda expressiva de polifenóis. Sugere-se que nesse momento o clarificante teve ação efetiva e influenciou na reação proteína/polifenóis, ligando suas cargas negativas as cargas positivas das proteínas conduzindo à formação de grandes partículas precipitadas.

Na literatura, essa redução de compostos fenólicos foi citada por alguns autores. Fantozzi et al. (1998) mostrou que durante todo o processamento da cerveja, há um decréscimo de 28% na concentração de compostos fenólicos, e simultaneamente uma redução de 29% na sua atividade antioxidante. Siqueira, Bolini e Macedo (2008), também descreveram uma redução no teor de fenólicos. Em uma pesquisa feita por Fumi, Galli e Donadini (2006) durante o processo de fabricação de cerveja, detectaram um comportamento parecido com o obtido nesse estudo, onde com o decorrer do processo o teor de compostos fenólicos foi diminuindo.

Ao observar o desempenho dos amidos modificados, nota-se que alguns amidos tenderam a um comportamento parecido estatisticamente com a goma carragena. Na última etapa do processo, valores menores foram encontrados nas amostras 4 e 8, quando

comparados com o controle (carragena). Já as amostras 3, 5, 7, 9 e 10 não apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ). Em paralelo, foi feita uma amostra de cerveja artesanal ausente de clarificantes (amostra 1) para grau comparativo, onde esta teve o maior teor de compostos fenólicos e, após a maturação mostrou-se constante. A amostra 2 procedeu da mesma maneira, mostrando ineficiência na remoção de compostos fenólicos. Sugere-se que houve baixa modificação desse amido, e que uma menor quantidade de cargas negativas influenciou nesse resultado.

### 5.2.3 Flavonóides

Os flavonóides compreendem um grupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais (SILVA et al., 2010). Apresentam baixo peso molecular (VANDERHAEGER et al., 2006) e atuam principalmente como antioxidantes, aumentando a estabilidade da cerveja (ZHAO et al., 2010). Possuem habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação da cerveja (SILVA et al., 2010). Os pesquisadores atribuem estas propriedades benéficas dos compostos fenólicos contidos na cerveja, principalmente aos ácidos fenólicos e flavonóides, sendo que os principais flavonóides na cerveja, sejam oriundos do malte ou do lúpulo são catequinas, quecetina, kanferol, mirecitina, xanthohumol e isoxanthohumol.

O comportamento dos amidos modificados na remoção dos flavonóides está apresentado no Gráfico 5. Os valores submetidos ao teste de Tukey estão apresentados no Anexo 4.

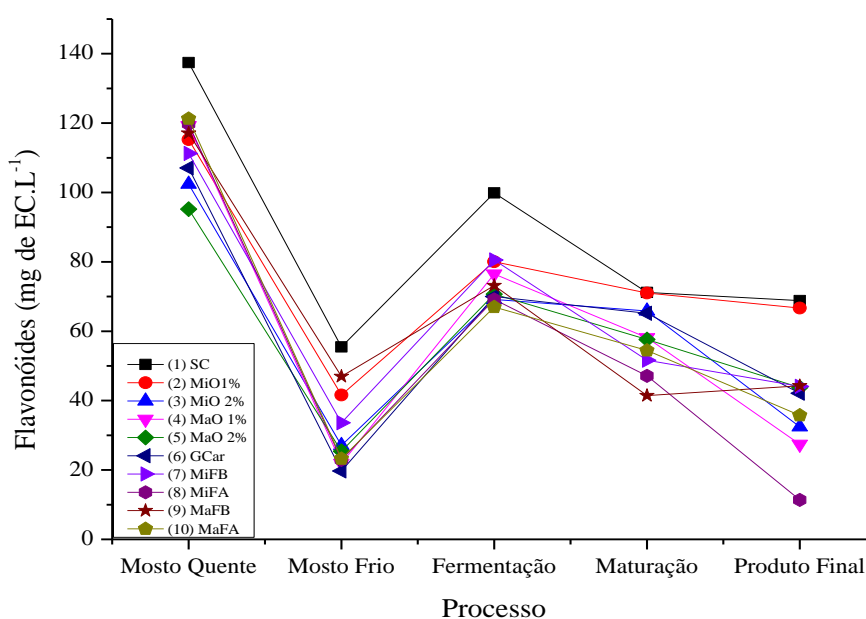


Gráfico 5. Teor de flavonóides durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.



Na primeira fase do processo (mosto quente) nota-se um valor elevado no conteúdo de flavonóides e, logo após, uma queda significativa é percebida. Assim como na análise de compostos fenólicos, esse comportamento deve-se a instabilidade deste componente em altas temperaturas. Pascoe, Ames e Chandra (2003) relataram situação parecida nessa etapa do processo.

A partir do fim da fermentação as amostras 3, 4, 8 e 10 tiveram uma diminuição drástica, em relação as demais amostras, chegando ao valor de 11,32 mg equivalente de catequina por litro (EAC.L<sup>-1</sup>). Para essas amostras, pode-se perceber uma melhor eficiência ( $p \leq 0,05$ ) na remoção de flavonóides em relação a carragena. No entanto, a amostra 2, mostrou novamente valores semelhantes a amostra 1 (sem clarificante), expressando ineficiência na clarificação da cerveja artesanal. Fantozzi et al., (1998) apontaram uma diminuição de flavonóides durante o processo de fabricação de cerveja e uma redução consistente após a fermentação. Os mesmos autores esclarecem que os principais compostos fenólicos são os flavonóides. As amostras 5, 7 e 9 não obtiveram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) da amostra controle (amostra 6) na ultima etapa do processo de fabricação de cerveja artesanal, tendo potencial para atuar como redutores de flavonóides.

No estudo de Fumi, Galli e Donadini (2006), depois do processo de fermentação o conteúdo inicial de compostos fenólicos totais são reduzidas em cerca de 50% e, entre as diferentes classes, e os flavonóides foram reduzidos em cerca de 90%. Siqueira, Macedo e Bolini (2007) observaram o decréscimo na concentração de flavonóis, ao estudar o comportamento de cervejas durante a estocagem.

Durante o processamento os polifenóis, principalmente os flavonóis, podem se polimerizar e combinar com proteínas, causando turbidez no produto (KEUKELEIRE, 2000), por isso, alguns procedimentos podem prevenir o aparecimento da turbidez, tais como prevenir a formação de grande quantidade de produtos de degradação dos complexos protéicos, através da utilização de clarificantes.

#### 5.2.4 Biureto

A cerveja apresenta teores de proteínas provenientes do malte, que apresenta de 9 a 12% em sua composição. No processo, é um componente muito importante, pois fornece os aminoácidos necessários para o crescimento da levedura e têm substâncias nitrogenadas que desenvolvem um papel importante na formação da espuma. Essas proteínas podem ser encontradas com alto, médio e baixo peso molecular (CANCELARA, LUSA, 2006). A cerveja tem uma concentração peptídica de aproximadamente 500 mg/L. Enquanto que alguns

polipeptídios e proteínas, de baixas massas não apresentam qualquer função na cerveja (exceto na contribuição nutricional), outras são responsáveis pela formação de turvação coloidal (LEIPER, STEWART, MCKEOWN, 2003).

O excesso de proteínas na cerveja aumenta o risco de turvação. Como pequenos teores de proteínas são necessários para dar estabilidade à espuma, deve-se eliminar o máximo de material proteico (MACIEL, ELÓ, 2013), pois o excesso de proteínas é indesejável, dificultando as etapas de filtração e as proteínas de alto peso molecular também é susceptível a formação de turbidez na cerveja, diminuindo o tempo de prateleira (ZUPARDO 2010). Os resultados de teores de proteína durante o processo de fabricação de cerveja artesanal estão ilustrados no Gráfico 6. Os dados submetidos ao teste de Tukey estão expressos no Anexo 5.

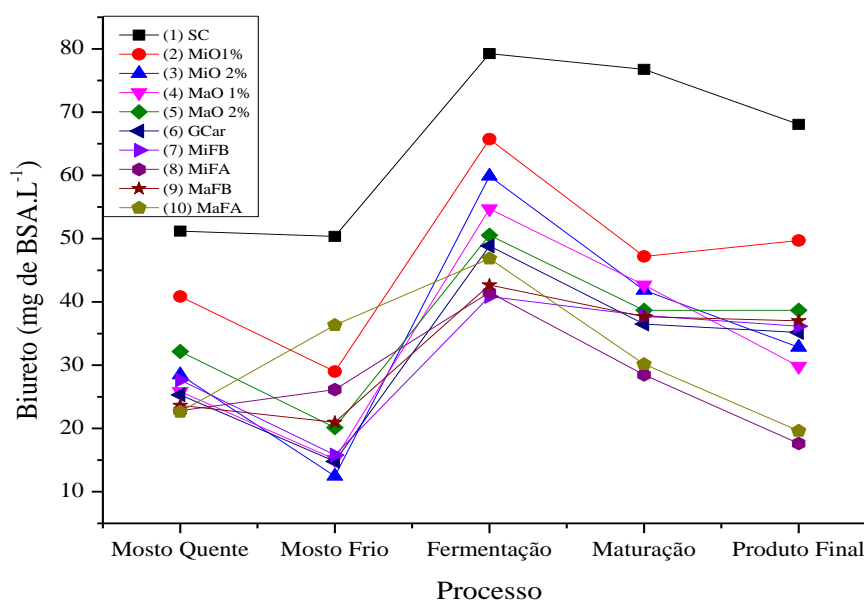


Gráfico 6. Método de Biureto para eliminação de proteínas durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.

Durante a fervura (mosto quente), promove-se a precipitação de complexos entre proteínas e polifenóis, a solubilização de componentes do lúpulo e a esterilização do mosto (DENK et al., 2000). As enzimas presentes são inativadas, as proteínas reagem com os taninos e formam um material precipitado, conhecido como “trub” (CARVALHO, BENTO, SILVA, 2006). Neste momento, uma parcela de proteínas é retirada e o mosto é resfriado. Assim pode-se explicar a queda nos valores do mosto frio. A ação do agente clarificante é percebida, pois para a amostra sem clarificante não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ). Para as amostras 8, 9 e 10 observa-se um aumento no teor de proteínas, sugerindo que nesta etapa não ocorreu interação entre proteína/clarificante. Já para as amostras 2, 3, 4, 5 e 7 houve

um decréscimo significativo ( $p \leq 0,05$ ) no teor de proteínas, apresentando um comportamento semelhante ao controle (amostra 6).

Ao resfriar o mosto, faz-se a aeração até a saturação na concentração de oxigênio dissolvido e adiciona-se a levedura ativada (CARVALHO, BENTO, SILVA, 2006). Durante a fermentação ocorre grande atividade metabólica da levedura, e quase todo extrato fermentável é convertido em etanol e gás carbônico (VENTURINI FILHO, 2000). Por essa movimentação é difícil que as proteínas consigam ligar-se ao clarificante e polifenóis, justificando esse aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) nos níveis proteicos.

Assim como nos resultados de compostos fenólicos e flavonóides, pode-se observar uma diminuição proteica durante a maturação até a obtenção do produto final. As amostras 8 e 10 que inicialmente foram ineficientes, apresentaram os melhores resultados na remoção de proteínas, seguidas das amostras 3 e 4. Esse comportamento é o oposto ao da goma carragena que apresenta um melhor desempenho na etapa de fervura, mas é semelhante ao da gelatina que tem ação efetiva na etapa de maturação (RYDER, POWER, 2006). Fumi, Galli e Donadini (2006) defendem que a polimerização e os processos de precipitação podem ocorrer com intensidades diferentes e em momentos diferentes.

Furigo et al. (2009) citam que após a maturação, a cerveja contém leveduras, partículas coloidais dos complexos proteínas-polifenóis e outras substâncias insolúveis, formadas devido ao pH (3,0 – 5,5) existente e as baixas temperaturas utilizadas durante essa etapa. Portanto para a obtenção um produto límpido é necessário adicionar um agente clarificante ou realizar a filtração do levedo para remover esse material insolúvel antes do engarrafamento. Como as amostras 8 e 10 destacam-se pela clarificação nessas etapas, a utilização destas beneficia o processo, sem necessidade de uma etapa prévia ao engarrafamento, gerando ganho econômico e de tempo. No estudo de Dale, Tran e Lyddiatt (1995), ao aumentar o teor de carragena na fabricação de cerveja obtiveram uma queda nos valores de proteínas, apresentando um comportamento semelhante ao dessa pesquisa.

O método proposto por Biureto é muito eficaz para determinar a presença de aminoácidos nos alimentos e conseqüentemente proteínas, este método também possui a vantagem de ser rápido e se utilizar de reagentes de baixo custo, além do fato de não apresentar grande variação de absorvidade específica para diferentes proteínas, sendo indicado para determinação de proteínas em meios biológicos (DROCHIOIU, DAMOC, PRZYBYLSKI, 2006).

### 5.2.5 Espectrofotometria (Translucidez)

O aspecto translúcido de uma cerveja é de grande importância e refere-se a um processo eficiente, resultando em um produto de qualidade. A análise de espectrofotometria pode ser aplicada na cerveja. Fayle e Gerrard (2002) citam que a claridade do mosto pode ser avaliada por absorvância a 600 nm e quanto maior for este parâmetro menos claro é o mosto ou a cerveja devido a presença de partículas em suspensão que difratam a luz. Desta forma, esse estudo realizou a medida no decorrer do processo de obtenção de cerveja artesanal e o comportamento das amostras foram demonstrados no Gráfico 7, sendo que os dados obtidos foram expressos no Anexo 6.

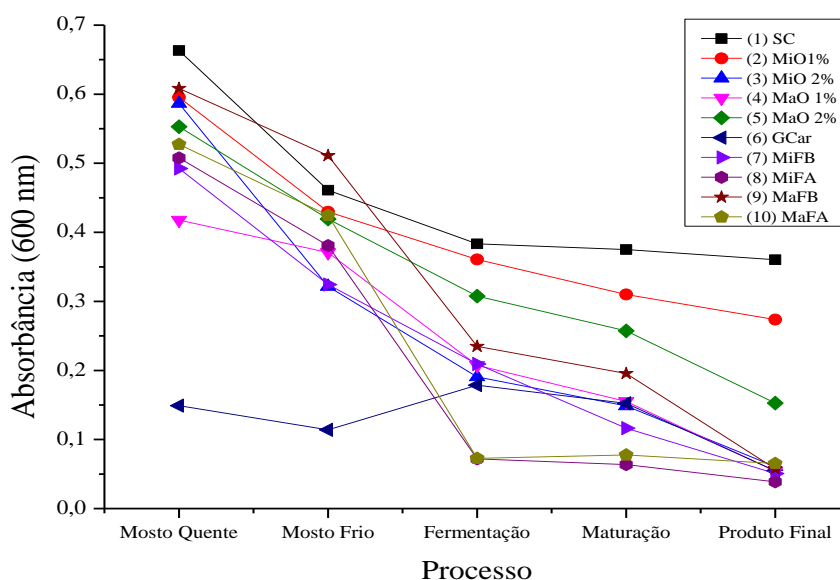


Gráfico 7. Efeito dos agentes clarificantes na absorvância da cerveja artesanal.

Ao observar o gráfico, pode-se dizer que até a etapa de fermentação a goma carragena tem um efeito muito diferente das outras amostras. Desde o mosto quente ocorre ação efetiva na clarificação, e a absorvância difere significativamente de todas as outras amostras. Já a amostra sem clarificante tem reação contrária, apresentando os maiores valores em todas as etapas. Sugere-se que a diminuição da absorvância na amostra 1 deve ser atribuída somente ao efeito da gravidade.

Entre os amidos modificados, na primeira etapa a amostra 4 obteve melhor resultado de absorvância, seguido das amostras 7, 8 e 10. A partir da fermentação, uma drástica mudança ocorre, e as amostras 8 e 10 superam a amostra controle (6), sugerindo que é nesta etapa que estes clarificantes começam a agir, fazendo interação proteína/ clarificante, resultado na precipitação deste complexo e na clarificação da cerveja. As amostras 2 e 5

diminuem significativamente ( $p \leq 0,05$ ) sua ação clarificante, aproximando-se do comportamento da amostra 1, insinuando que a partir dessa etapa, não apresentam mais efeito sobre a absorvência da cerveja.

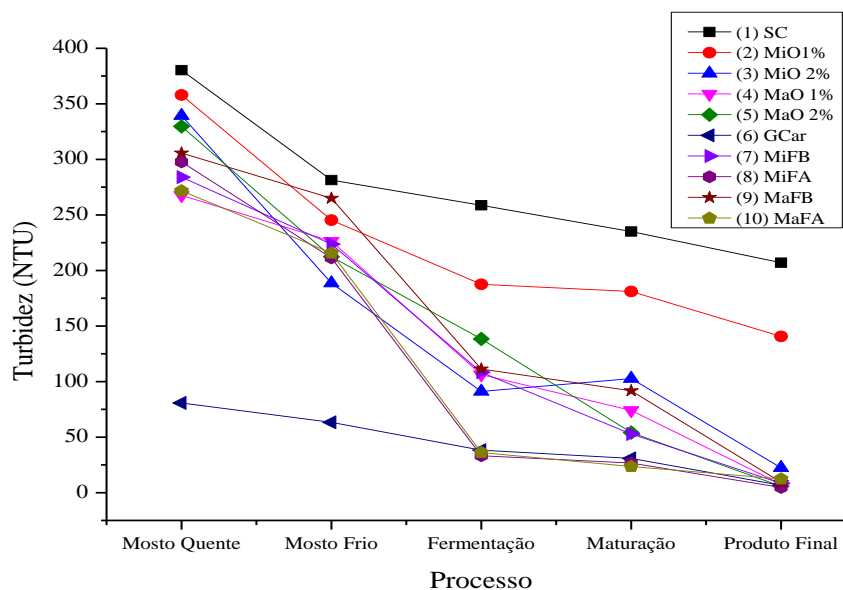
Na obtenção do produto final, nota-se que as amostras 3, 4, 7, 8, 9 e 10 não diferem significativamente da carragena (amostra 6), sugerindo que mesmo que nas primeiras etapas a goma carragena tenha destaque na diminuição da absorvência, no decorrer do processo, estes amidos modificados tem potencial clarificante, e resultam em um produto de qualidade, tão translúcido quanto a carragena.

De acordo com a literatura, Dale, Tran e Lyddiatt (1995) ao estudar o efeito da carragena na clarificação da cerveja apresentam resultados de absorvência 1.314 em cervejas sem clarificantes e ao adicionar goma carragena conseguem alcançar a medição de 1.096 a 0,005, sendo que a absorvência vai diminuindo com a adição do clarificante. Nesse estudo, o menor valor encontrado foi 0,039 na amostra de amido de milho fosfatado alto (amostra 8).

#### 5.2.6 Turbidez

A matéria-prima utilizada para a produção da cerveja é fonte de precursores da turbidez, como polifenóis, proteínas (WARD, 1995; SIQUEIRA, BOLINI, MACEDO 2008), carboidratos e íons metálicos que alteram a estrutura física do produto (VANDER SMAN, 2012). Alguns procedimentos podem prevenir ou retardar o aparecimento da turbidez, tais como prevenir a formação de grande quantidade de produtos de degradação dos complexos protéicos, fazer uma hidrólise enzimática destes produtos de degradação, remover compostos fenólicos de maior peso molecular, armazenar a cerveja no estágio de maturação em temperaturas baixas a fim de precipitar os precursores da formação da turbidez (BENÍTEZ et al., 2013).

É comum o uso de agentes clarificantes para prevenir a formação de turbidez, pois a turvação torna a cerveja inadequada para o mercado, que exige um produto límpido e brilhante (LEONEL, JACKY, CEREDA, 1998; CANCELLARA, LUSA, 2006). O gráfico 8 demonstra os resultados de turbidez obtidos no processo de fabricação de cerveja artesanal. O Anexo 7 compara as amostras por teste de Tukey.



**Gráfico 8. Reação dos agentes clarificantes na turbidez da cerveja artesanal.**

Observa-se no gráfico, um comportamento semelhante aos resultados de claridade determinado por leitura da absorbância do mosto a 600 nm. A turbidez da amostra controle (6) diminuiu do mosto quente, enquanto que os mostos contendo amido modificado têm decréscimo expressivo quando atingem a fermentação.

Cancellara e Lusa (2006) descrevem que na maturação a turbidez é reduzida com o resfriamento, pois há uma sedimentação por gravidade clarificando a cerveja e, esta clarificação pode ser aprimorada pela adição de um agente clarificante como a goma carragena e a gelatina (RYDER, POWER, 2006). Ao analisar o produto final, constata-se que as amostras 5 e 8 apresentaram valores menores ( $p \leq 0,05$ ) de turbidez que o controle (amostra 6), destacando-se como agentes clarificantes eficientes. Sugere-se que estes amidos modificados tem ação com as proteínas do mosto a partir da fermentação, diminuindo a turbidez e resultando em cervejas mais claras.

As amostras 3, 7, 9 e 10 apresentaram resultados inferiores estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) comparados a carragena (amostra 6) na etapa final. No entanto, os mostos contendo estes amidos modificados foram mais claros ( $p \leq 0,05$ ) que a amostra 1 (sem clarificante) durante todo o processo de obtenção da cerveja, mostrando que esses amidos tem potencial clarificante. No produto final, os resultados obtidos nesse estudo variaram entre 296,98 NTU e 4,75 NTU. Na literatura, Lópes e Guell (2001) ao aplicar gelatina para clarificar cerveja obtiveram resultados entre 93 NTU e 2,5 NTU na etapa final. Rovalletti et al., (2014) realizaram uma pesquisa sobre a interação de proteínas e ácidos tânico e conseguiram chegar ao de 2,4 NTU na cerveja engarrafada.

### 5.2.7 Viscosidade relativa

A clarificação da cerveja ocorre através da sedimentação da levedura, e separação de substâncias como os complexos taninos-protéicos, que provocam turvação em baixas temperaturas. É importante observar, que quanto maiores e mais pesadas as substâncias e menor a viscosidade da cerveja, mais rápida e eficiente será a clarificação (REINOLD, 1997).

A viscosidade do mosto como também da cerveja é influenciado pela presença de  $\beta$ -glucanos, pentosanos, dextrinas, açúcares e material proteico extraídos do malte na etapa de mosturação (SEVERA et al., 2009). A finalidade de determinar a viscosidade a viscosidade relativa em cerveja é observar a eliminação de compostos que influenciem em sua estabilidade. Supõe-se que a interação do clarificante com as proteínas responsáveis pela turvação, que estão suspensas no meio (médio e baixo peso molecular) formam agregados capazes de sedimentar.

Os resultados de viscosidade relativa obtidos nessa pesquisa podem ser observados no Anexo 8, e o comportamento das amostras foi ilustrado no Gráfico 9.

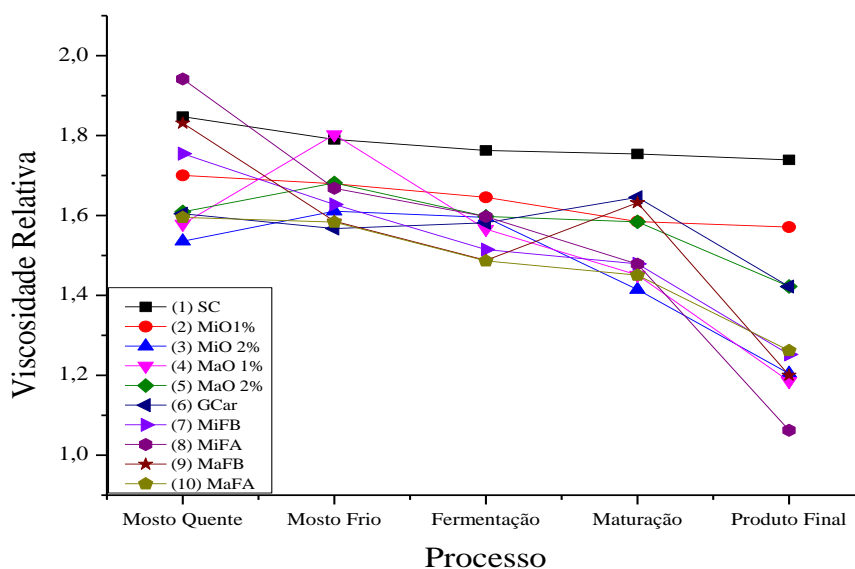


Gráfico 9. Resultados de viscosidade intrínseca durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.

O princípio de analisar a viscosidade relativa em cerveja é observar a eliminação de compostos que influenciem em sua estabilidade. Supõe-se que a interação do clarificante com as proteínas responsáveis pela turvação, que estão suspensas no meio (médio e baixo peso molecular) formam macromoléculas capazes de sedimentar. As amostras analisadas apresentaram comportamentos variados. No mosto frio, as amostras 3, 4 e 5 destacaram-se pelo comportamento atípico, comparado as outras amostras, pois aumentaram

significativamente ( $p \leq 0,05$ ) a viscosidade, demonstrando ineficiência de formar interação com as proteínas nesta etapa. Para a amostra sem clarificante, nota-se um comportamento linear, mesmo tendo diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) durante o processo, que pode ser justificado pelo efeito da sedimentação natural e pela força da gravidade.

A partir da fermentação, verifica-se uma diminuição na viscosidade relativa das amostras que utilizaram amido modificado como clarificante, enquanto o controle (6) apresentou um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ). Galvão (1997) descreve que durante a produção de mosto, as moléculas de amido presentes no malte são hidrolizadas enzimaticamente e transformadas em polissacarídeos, trissacarídeos e dissacarídeos. Os primeiros agem até ao produto final, sendo os principais responsáveis pela viscosidade e densidade da cerveja, propriedades que se relacionam com o "corpo" da bebida. Já os glicídios de menor grau de polimerização são metabolizados pela levedura durante a fermentação, diminuindo a viscosidade relativa da cerveja.

Em pesquisas, Ward (2015) notou que após a fermentação ocorrem várias mudanças, como diminuição do pH, sedimentação da levedura, facilidade de interação proteína/polifenol, que resulta na remoção de 45-65% de proteína solúvel. Além disso, a concentração de álcool aumenta e a viscosidade e densidade são reduzidas. Este comportamento é percebido com mais eficiência nas amostras 3, 4, 7, 8 e 9, superando significativamente ( $p \leq 0,05$ ) os resultados do clarificante goma carragena (amostra 6). Levanta-se a hipótese de que esses amidos têm eficiência na eliminação de macromoléculas a partir da etapa de fermentação, causando a redução da viscosidade relativa.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA

O objetivo de um clarificante é tornar a cerveja límpida e cristalina com estabilidade microbiológica, físico-química, de espuma e sensorial (sabor e odor), pela retirada partículas turvadoras e diminuição de substâncias as quais podem, posteriormente, provocar a turvação (JUDICE, 2007). Na Tabela 5 encontram-se os resultados obtidos das análises de pH, extrato real, acidez total, teor alcóolico, extrato primitivo, grau real de fermentação. Estes foram submetidos á análise de variância (ANOVA) e as diferenças das médias comparadas através do teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade para verificar possível diferença entre as cervejas.



**Tabela 6. Resultados das análises físico-químicas realizadas para a caracterização das amostras de cerveja.**

Amostras	Ph	Extrato Real (% m/v)	Acidez Total (gH <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /L)	Teor Alcolóico (% v)	Extrato Primitivo (%m/m)	Grau real de fermentação
1. SC	4,59 ± 0,01 <sup>ab</sup>	3,91 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,15 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,51 ± 0,12 <sup>d</sup>	12,59 ± 0,04 <sup>e</sup>	72,88 ± 0,41 <sup>e</sup>
2. MiO (1%)	4,43 ± 0,01 <sup>f</sup>	2,79 ± 0,09 <sup>e</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,11 ± 0,09 <sup>e</sup>	10,80 ± 0,21 <sup>f</sup>	77,68 ± 0,26 <sup>d</sup>
3. MiO (2%)	4,51 ± 0,01 <sup>cde</sup>	2,29 ± 0,06 <sup>f</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>ab</sup>	6,39 ± 0,22 <sup>b</sup>	14,63 ± 0,63 <sup>bc</sup>	90,24 ± 0,57 <sup>a</sup>
4. MaO (1%)	4,61 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,07 ± 0,03 <sup>de</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>ab</sup>	6,33 ± 0,23 <sup>b</sup>	15,49 ± 0,13 <sup>b</sup>	85,56 ± 0,81 <sup>b</sup>
5. MaO (2%)	4,48 ± 0,01 <sup>e</sup>	3,50 ± 0,15 <sup>bc</sup>	0,14 ± 0,03 <sup>ab</sup>	5,62 ± 0,07 <sup>c</sup>	14,44 ± 0,06 <sup>cd</sup>	80,94 ± 1,01 <sup>c</sup>
6. GCar	4,56 ± 0,01 <sup>bc</sup>	3,25 ± 0,11 <sup>cd</sup>	0,12 ± 0,01 <sup>ab</sup>	5,27 ± 0,15 <sup>c</sup>	13,44 ± 0,24 <sup>de</sup>	80,53 ± 1,43 <sup>cd</sup>
7. MiFB	4,58 ± 0,02 <sup>ab</sup>	3,34 ± 0,07 <sup>cd</sup>	0,12 ± 0,02 <sup>ab</sup>	6,94 ± 0,03 <sup>a</sup>	16,59 ± 0,13 <sup>a</sup>	86,38 ± 0,25 <sup>b</sup>
8. MiFA	4,51 ± 0,03 <sup>de</sup>	2,08 ± 0,02 <sup>f</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,64 ± 0,05 <sup>d</sup>	11,24 ± 0,09 <sup>f</sup>	85,53 ± 0,43 <sup>b</sup>
9. MaFB	4,55 ± 0,02 <sup>bcd</sup>	3,40 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>ab</sup>	5,36 ± 0,07 <sup>c</sup>	13,87 ± 0,11 <sup>cd</sup>	80,37 ± 0,31 <sup>cd</sup>
10. MaFA	4,51 ± 0,02 <sup>de</sup>	3,71 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,14 ± 0,02 <sup>ab</sup>	4,44 ± 0,15 <sup>de</sup>	12,45 ± 0,35 <sup>e</sup>	74,17 ± 1,19 <sup>e</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Os valores de pH para cervejas apresenta-se dentro da faixa de 3,8 a 4,7 (COMPTON, 1978), devido a produção de ácidos orgânicos durante a fermentação alcoólica que resulta em queda de pH observada entre o mosto e a cerveja (REINOLD, 1997). Esta reação pode ser observada, pois na etapa de fabricação do mosto a água utilizada encontrava-se com pH de 5,3 e, os resultados do produto final variaram entre 4,48 e 4,61. Apesar de todas as cervejas apresentarem-se dentro do padrão, as amostras 1, 4, 6, 7, e 9 obtiveram proximidade dos valores ao limite superior. Já as amostras 2, 5, 8 e 10 tiveram resultados menores de pH, sugerindo que estes amidos podem contribuir para a conservação da cerveja, pois em pH mais baixos as chances de contaminação diminuem, além de retardar a autólise de leveduras.

O percentual de extrato real indica a quantidade de ingredientes não transformados em álcool que são encontrados na cerveja depois da fermentação, variando de acordo com o teor de sólidos solúveis. O padrão estabelecido para cerveja apresenta valores de 3,7 a 4,8% (BRASIL, 2009). Nesta pesquisa foram obtidos resultados entre 2,08 a 3,91%. As amostras 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 obtiveram resultados abaixo do padrão, sugerindo que houve eficiência desses agentes clarificantes, ocorrendo a eliminação de compostos que prejudicariam as características da cerveja. Essa confirmação pode ser explicada através da amostra sem clarificante que apresentou o maior valor, pois não teve ação de nenhum clarificante para contribuir na eliminação de sólidos.

A acidez total das cervejas se situa dentro dos valores de 0,09 a 0,15% (COMPTON, 1978). Para estes parâmetros observou-se uma variação entre 0,09 a 0,15% para as amostras analisadas, mostrando que todas as cervejas se mantiveram dentro do padrão, mesmo algumas amostras diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

A partir do teor alcoólico as cervejas podem ser classificadas em sem álcool (<0,5%), baixo teor alcoólico (0,5 a 2,0%), médio teor alcoólico (2,0 a 4,5%) e alto teor alcoólico (4,5 a 7,0%) (BRASIL, 2009). Sabendo disso, pode-se dizer que as amostras 1, 2 e 10 possuem médio teor alcoólico e as amostras 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9 encontram-se com alto teor alcoólico. Esta análise relaciona-se com a maioria das características da cerveja, como a quantidade de sólidos solúveis, pois quanto mais álcool a levedura produzir, mais sólidos consumirá (HARDWICK, 1995). No caso do extrato real e primitivo ocorre o contrário, pois esses valores aumentam.

O extrato primitivo mede a quantidade de substâncias dissolvidas (extrato) do mosto que da origem à cerveja, referindo-se à quantidade de ingredientes diferentes da água utilizados em sua preparação. De acordo com o teor do extrato primitivo as cervejas podem ser classificadas em leve (5 a 10,5%), comum (10,5 a 12,5%), extra (12,5 a 14%) e forte ( $\geq 14,5\%$ ) (BRASIL, 2009). Como citado no teor alcoólico, pode-se notar que o extrato primitivo aumentou nas mesmas amostras que apresentaram teor alcoólico elevado. De acordo com os padrões, as amostras 2, 8 e 10 podem ser consideradas comuns. Já as amostras 1, 6, e 9 extras. E, as amostras 3, 4, 5 e 7 são cervejas fortes.

Para a análise de grau real de fermentação, Nielsen e Erdal (2005) citam que as cervejas variam entre 65 e 85%. Sendo assim, pode-se dizer que as amostras 3, 4, 7 e 8 ficaram acima dos limites. As formulações 1, 2, 5, 6, 9, e 10 ficaram dentro do padrão. Em teoria, os clarificantes foram eficientes na remoção de proteínas, facilitando a fermentação e as etapas seguintes.

## 6 CONCLUSÃO

Os amidos modificados apresentaram influência positiva na clarificação da cerveja artesanal. Apesar de durante as primeiras etapas a goma carragena apresentar melhor desempenho, alguns amidos destacaram-se ao na etapa de maturação e no produto engarrafado, mostrando que sua ação clarificante ocorre após a fermentação.

De acordo com o comportamento das amostras diante das análises que foram submetidas, observou-se que na fosfatação, a fonte botânica não influenciou, e as amostras destaques na clarificação foram o amido de milho fosfatado baixo (2,8%) (amostra 7), o amido e milho fosfatado alto (8,6%) (amostra 8) e o amido de mandioca fosfatado alto (amostra 10). Para a oxidação a amostra que apresentou melhor desempenho foi o amido de mandioca oxidado 1%, sugerindo que para essa modificação o amido de milho não teve a mesma eficiência que o amido de mandioca.

Pode-se notar através das análises que os amidos citados acima apresentaram alguns resultados melhores que a goma carragena na etapa final. Na caracterização físico-química observou-se que a ação dos amidos afetou positivamente, contribuindo para a qualidade do produto final e manter os padrões estabelecidos.

Em um aspecto global, sugere-se que os amidos são bons agentes clarificantes de cerveja artesanal e a fonte botânica não influenciou na clarificação, mas as modificações realizadas nos amidos influenciaram.

De acordo com os dados experimentais obtidos durante a realização deste trabalho, sugere-se que modificar amidos, carregando-os negativamente, e fazer aplicação em cervejas promovem a atuação clarificante, provavelmente através da formação de complexos e interações com as proteínas do mosto. A aplicação de amidos modificados pode ser um atrativo para as microcervejarias, pelo fácil acesso e baixo custo.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAFIZ, S. A. Accelerated oxidation of maize starch using the sodium chlorite/thiourea system. **Polymer Degradation and Stability**, Oxford, v. 47, n. 2, p. 275-281, 1995.
- ABSAR, N.; ZAIDUL, I.S.M.; TAKIGAWA, S.; HASHIMOTO, N.; MATSUURA C.; YAMAUCHI H.; NODA T. Enzymatic hydrolysis of potato starches containing different amounts of phosphorus. **Food Chemistry**. v. 112, 57-62, 2009.
- ADEBOWALE, K. O.; LAWAL, O. S. Effect of annealing and heat moisture conditioning on the physicochemical characteristics of Bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*) starch, **Nahrung-Food**, v. 46, n. 5, p. 311-316, 2002.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Analytical Communities. Gaithersburg, 17th edn. MD, USA, 2000.
- ATICHOKUDOMCHAIA, N.; VARAVINITA, S.; CHINACHOTI, P. A study of ordered structure in acid-modified tapioca starch by <sup>13</sup>C CP/MAS solid-state NMR **Carbohydrate Polymers**, v. 58, 383–389, 2004.
- BATISTA, W.P.; SILVA, C.E.M.; LIBERATO, M.C. **Propriedades químicas e de pasta dos amidos de trigo e milho fosforilados**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n°. 1, p. 88- 93, 2010.
- BEMILLER, J.; WHISTLER, R. **Starch chemistry and technology**. 3. ed. Burlington: Academic Press, 2009.
- BENÍTEZ, E., MARTINEZ AMEZAGA, N., SOSA, G., PERUCHENA, N., & LOZANO, J. Turbidimetric behavior of colloidal particles in beer before filtration process. **Food and Bioprocess Technology: An International Journal**, 6, 1082–1090, 2013.
- BERNSTEIN, L, WILLOX, I.C. **Água** In: BRODERICK, H.M. (Dir.) **El cervecero en la practica: um manual para la industria cervecero**, 2 ed. Lima Gráficas SUR cap. 2, 1977.
- BILIADERIS, C.G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.49, p.60-78, 1991.
- BOTELHO, B. G. **Perfil e teores de aminos bioativas e características físico-químicas em cervejas**. Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte, MG, 2009.
- BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. **234, de 19 de agosto de 2002**. Regulamento técnico sobre aditivos utilizados segundo as boas praticas de fabricação e suas funções. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 21 de agosto de 2002.
- BRASIL. Decreto n. 2.314, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a lei Nº **8.918 de 14 de julho de 1994**, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 5 set. 1997.
- BRASIL. MAPA, Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Decreto Nº **6871, de 04 de junho de 2009**. Diário Oficial da União, Brasília 05/06/2009. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>. Acesso em agosto de 2015.
- CÁRDENAS, H. A. R. **Determinación de Parámetros Físico-Químicos para La Caracterización de Cerveza Tipo Lager Elaborada por Compañía Cervecera Kunstmann S.A.** 2003. 95p. Tese (Licenciatura em Engenharia de Alimentos) - Universidade Austral do Chile, Chile, 2003.

- CARMONA-GARCIA, R.; AGUIRRE-CRUZ, A.; YEE-MADEIRA, H.; BELLO-PEREZ, L.A. **Dual modification of banana starch: partial characterization**. *Starch/Stärke*, v. 61, p. 656-664, 2009.
- CARRAGENA, um alimento indispensável! **Aditivos Ingredientes**. São Paulo: Insumos, n. 6, p. 22-32, 2000.
- CARVALHO, B. M. ; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 1ª parte – As Leveduras. **Revista Analytica N° 25**. Outubro/ Novembro, 2006.
- CARVALHO, GBM; DRAGONE, G; BENTO, CV; SANTOS, DT; SARROUH, BF; FELIPE, MGA; ALMEIDA E SILVA, JB. Utilização dabanana como adjunto na obtenção de mosto cervejeiro de alta densidade: um estudo para fim biotecnológico clássico inédito. In: **Congresso Mineiro de Propriedade Intelectual**, Agosto 9-11, UFJF, Juiz de Fora - MG, 2006.
- CEREDA, M. P. (Coord.) **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americanas**. (Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas, v.3). São Paulo: Fundação Cargill, 246-332, 2003.
- CEREDA, M. P.; FRANCO, C. M. L. **Propriedades gerais do amido**. São Paulo: Fundação Cargill, 2001.
- CEREDA, M.P. Cervejas. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. *Biotecnologia - Alimentos e bebidas produzidos por fermentação*. v. 5. **Edgard Blücher**: São Paulo, 1985.
- CEREDA, M.P.; FRANCO, C.M. L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO L.J.C.B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**. 204 p. (Série Culturas de Tubérculos Amiláceas Latino Americanas, 1). São Paulo: Fundação Cargill, 2002.
- CEREDA, M.P.; VENTURINI FILHO, W.A. Cerveja. In: AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. *Biotecnologia Industrial*. v. 4 – Biotecnologia na produção de alimentos. **Edgard Blücher**: São Paulo, 2005.
- CHAN, H. T.; LEH, C. P.; BHAT, R.; SENAN, C.; WILLIAMS, P. A.; KARIM, A. A. Molecular structure rheological and thermal characteristics of ozone-oxidized starch. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1019-1024, jun. 2011.
- CHANG, C.C., YANG, M.H., WEN, H.M. & CHERN, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**. **Journal**, 10, 178–182, 2002.
- CHATTOPADHYAY, S.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. Optimisation of conditions of synthesis of oxidized starch from corn and amaranth for use in film-forming applications. **Carbohydrate Polymers**, n. 34, p. 203-212, 1997.
- CHÁVEZ-MURILLO, E.C.; WANG, Y.; BELLO-PÉREZ, L.A. Morphological, Physicochemical and Structural Characteristics of Oxidized Barley and Corn Starches. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 634–645, (2008).
- CHIN, S. F.; PANG, S. C.; LIM, L. S. Synthesis and Characterization of Novel Water Soluble Starch Tartarate Nanoparticles. **ISRN Materials Science**, v. 2012, p. 1-5, 2012.
- CHONG, W.T.; UTHUMPORN, U.; KARIM, A.A.; CHENG, L.H. The influence of ultrasound on the degree of oxidation of hypochlorite-oxidized corn starch. **LWT - Food Science and Technology**. V. 50, p. 439-443, 2013.

CHUNG, Y.; LAI, H. Molecular and granular characteristics of corn starch modified by HCl-methanol at different temperatures. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 4, 527-534, 2006.

CIACCO, C. F.; CRUZ, R. **Fabricação do amido e sua utilização**. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e tecnologia do Estado de São Paulo, p.152, 1982.

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

CROMPTON, I. E. HEGARTY, P. K. Proc. 23rd Congr. Eur. Brew. Conv., Lisbon, p. 625, 1991.

CRUZ, R; EL-DASH, A. A.M. **Amido de Chuchu (*Sechium edule swartz*): Efeito da fosforilação em sua viscosidade- Bol. SBCTA**, 18(4), 1984.

DALE, C. J.; TRAN, H. T. N; LYDDIATT, A. Studies on the mechanism of action of copper fining agents (karrageenan). **Copyright - Journal of the Institute of Brewing**. Vol. 102. pp. 285-289, Great Britain, 1995.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DEBET, M. R; GIDLEY, M. J. Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids, **Carbohydrate Polymers**, p.452-465, 2006.

DENK, V., FELGENTRAEGER, H. G. W., FLAD, W., LENEOL, M., MICHEL, R., MIEDANER, H., STIPLER, K., HENSEL, H., NARZISS, L. and O'ROURKE, T. **European Brewery Convention: Manual of Good Practice, Wort Boiling and Clarification**, p. 176. Fachverlag Hans Carl, Nuremberg, 2000.

DIAS, A. R. G. Teor de amido resistente e perfil de textura de amidos de arroz com diferentes níveis de amilose modificados hidrotermicamente. **Braz. J. Food Technol**, v. IIISSA, p. 96-101, 2010.

DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; HELBIG, E. Oxidação dos amidos de mandioca e de milho comum fermentados: desenvolvimento da propriedade de expansão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p. 794-799, dez. 2007.

DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E.; HELBIG, E.; MOURA, F. A.; VARGAS, C.G.; CIACCO, C. F. Oxidation of fermented cassava starch using hydrogen peroxide. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n.1, p. 185-191, 2011.

DINIZ, I.P. **Caracterização tecnológica do polvilho azedo produzido em diferentes regiões do estado de Minas Gerais**. Dissertação (mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, 2006.

DROCHIOIU, G.; DAMOC, N.E.; PRZYBYLSKI, M. Novel UV assay for protein determination and the characterization of copper-protein complexes by mass spectrometry. **Talanta**. V. 69. p.556-564, 2006

FANTOZZI, P., MONTANARI, L., MANCINI, F., GASBARRINI, A., ADDOLORATO, G., SIMONCINI, M., CARDINI, M., GHISELLI, A. AND SCACCINI, C., In vitro antioxidant capacity from wort to beer. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol.**, vol. 31, p. 221-227. 1998.

FAO Agriculture – **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION**. Disponível em:<http://faostat.fao.org/> > Acesso em agosto de 2015.

FAYLE, S. E. and GERRARD, J. A. The Maillard Reaction, **Royal Society of Chemistry**, London, xiv+120 pp. 2002.

FDA - Food and Drug Administration. **Food starch modified**: code of federal regulation. Washington, 2007.

FERRINI, L. M. K. **Efeito da modificação ácido-metanólica nas características estruturais e físico químicas de amidos de milho e mandioca**. Dissertação ( Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade Estadual Paulista —Júlio de Mesquita Filho, 93f, 2006.

FIX, G.J. **Principles of Brewing Science**. Brewers Publications, 1999.

FOULADI, E.; MOHAMMADI N, A. Effects of acid-hydrolysis and hydrox-ypropylation on functional properties of sago starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, 68 (0), 251–257, 2014.

FRANCO, C. M. L.; CABRAL, R. A. F; TAVARES, D. Q. Structural and physicochemical characteristics of lintnerized native and sour cassava starches. **Starch/ Stärke**, v. 54, p.469-475, 2002.

FRANCO, C.M.L.; DAIUTO, E.R.; DEMIATE, I.M.; CARVALHO, L.J.C.; LEONEL, M.; CEREDA, M.P.; VILPOUX, O.F.; SARMENTO, S.B.S. **Série Culturas De Tuberosas Amiláceas Latino Americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002.

FUMI M.D, GALLI R, DONADINI G. Brewing process and phenolic compounds in beer. In: Proceeding Convention 2006—**The Institute of Brewing & Distilling**. Asia Paci Wc Section - Hobart Tasmania, p. 19-24, 2006.

FURIGO, A.; LAZZARI, M. L.; VIANA, P. J.; REFFATTI, F.; BAGNARIOILLI, B.; **Apostila Produção de cerveja**. Maio 2009.

GALVÃO, M. P. A química da cerveja. **Central das Cervejas**. v.65, 1997.

GERHAUSER, C. Beer constituents as potential chemopreventive agents. **European Journal of Cancer** v. 41, p. 1941-1954, 2005.

GOLDAMMER, T. The Brewers' Handbook. KVP Publishers: Virginia, 456p., 1999.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M.; **J. Biol. Chem.** Pg 177, 751, 1949.

GRAT H.L. In: BRODERICK, H.M. (Dir.) **El cervecero en la practica: manual para la industria cervecero**, 2 ed. cap 8 Lima Gráficas SUR 1977.

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

HERRERO, N. **Manual práctico do cervejeiro caseiro: técnicas atualizadas**. Juiz de Fora: Universidade, 2006.

HIRSCH, J.B.; KOKINI, J.L. Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl<sub>3</sub>, STMP and EPI) through swelling behaviour and pasting properties of cross-linked waxy maize starches. **Cereal Chemistry**, v. 79, p. 102-107, 2002.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 253-267, 2001.

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

IAL-INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3 ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v.1, 1985.

ISLAM, M. N.; MOHD, A. M. D.; MOHD, A. B.; NOOR, M. Effect of temperature and starch concentration on the intrinsic viscosity and critical concentration of sago starch (*Metroxylon sagu*). **Starch/Stärke**, v. 53, n. 2, p. 90-94, 2001.

JUDICE, F.T. **Parâmetros de controle para obtenção da qualidade e estabilidade da cerveja**. (Monografia de graduação em Engenharia de Alimentos). Belo Horizonte: Centro Universitário de Belo Horizonte, 35p, 2007

KARIM, A. A. Effects of phosphorus contents on the gelatinization and retrogradation of potato starch. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, 132-138, 2007.

KAUR, B., ARIFFIN, F., BHAT, R., KARIM, A. A. Progress in starch modification in the last decade. **Food Hydrocolloids**, 26 (2), 398–404, 2012.

KERR, R. W.; CLEVELANAND, F. C. J. Process of adding starch phosphates to paper pulp containing titanium dioxide to improve retention thereof. **United States Patent Office**. Assignors to Corn Products Company, New York, 1964.

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

KOO, S. H.; LEE, K. Y.; LEE, H. G. Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 619-625, 2010.

KUAKPETOON, D., e WANG, Y.J. Characterization of different starches oxidized by hypochlorite. **Starch/Stärke**, 53, 211–218, 2001.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylase content. **Carbohydrate Research**, v. 343, p. 90 -100, 2008.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Structural characteristics and physicochemical properties of oxidized corn starches varying in amylase content. **Carbohydrate Research**, 341, 1896–1915, 2006.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y-J. Characterization of Different Starches Oxidized by Hypochlorite. **Starch/Stärke**, n. 53, p. 211-218, 2006.

KUHBECK, F. Influence of Lauter turbidity on wort composition, fermentation performance and beer quality – A review. **Journal of the Institute of Brewing**. 112:215–221, 2006.

LACERDA, L. G. **Uso de técnicas termoanalíticas na caracterização da hidrólise enzimática parcial de amidos de matérias-primas tropicais**. 2006., 79f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2006.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O.; OGUNSANWO, B. M.; BARBA, L. L.; ILO, N. S. Oxidized and acid thinned starch derivatives of hybrid maize: functional characteristics, wide-angle X-ray diffractometry and thermal properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 35, n. 1-2, 71-79, 2005.



- LEACH, H. W. Determination of intrinsic viscosity of starches. **Cereal Chemistry**, v. 40, n. 6, p. 593-600, 1963.
- LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. II. Swelling power and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 36, p. 534-544, 1959.
- LEATHER R. V.; WARD I. L. The effect of wort pH on copper finning performance. **Centre for Biochemical Engineering**, School of Chemical Engineering, University of Birmingham, Birmingham, 1994.
- LEE, S.; KANG, Y.; HAN, S.H. RHEE, C. Influence of modification method and starch concentration on the stability and physical properties of modified potato starch as wall materials. **Food Research Technology**. v. 228, 449-455, 2009.
- LEHNINGER, A. Princípios de Bioquímica. 2 ed. São Paulo: **Sarvier Editora**, 1995.
- LEIPER, K. A.; STEWART, G. G.; MCKEOWN, I. P.; J. **Inst. Brew.** 109, p.73, 2003.
- LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 22, n. 1, p. 65-69, jan.-abr. 2002.
- LEONEL, M.; JACKEY, S.; CEREDA, M. P. Processamento industrial de fécula de mandioca e batata doce - um estudo de caso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, p. 343-345, 1998.
- LI, Y., VRIES, R., SLAGHEK, T., TIMMERMANS, J., STUART, M.A.C., NORDE, W. Preparation and characterization of oxidized starch polymer microgels for encapsulation and controlled release of functional ingredients. **Biomacromolecules**, 10,1931–1938, 2009.
- LI, Y., KADAM, S., ABEE, T., SLAGHEK, T.M., TIMMERMANS, J.W., STUART, M.A.C., & KLEIJN, M.J. Antimicrobial lysozyme-containing starch microgel to target and inhibit amylase-producing microorganisms. **Food Hydrocolloids**, 28, 28–35, 2012.
- LIM, S., SEIB, P. A., Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphates. **Cereal Chemistry**, 70, p. 137-144, 1993.
- LIM, S.T.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J.L. Characterization of phosphorus in starch by <sup>31</sup>P nuclear magnetic spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v.71, p.468-472, 1994.
- LIMBERGER, V. M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T.; COMARELA, C. G.; PATIAS, L. D. Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 84-88, 2008.
- LIU, H.; RAMSDEN, L.; CORKE, H. Physical properties and enzymatic digestibility of phosphorylated ae, wx, and normal maize starch prepared at different pH levers. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 6, 938-943, 1999.
- LIU, J; WANG, B; LIN, L; ZHANG, J; LIU, W; XIE, J; DING, Y, Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. **Food Hydrocolloids**, V36, p. 45-52, 2014.
- LÓPES, P. C. F.; GUELL, C. Membrane Fouling by turbidity constituents of beer and wine: characterization and prevention by means of infrasonic pulsing. **Journal of Food Engineering**. 49. p.25-36, 2001.

- LUGASI, A. Polyphenol content and antioxidant properties of beer. **Acta Alimentaria**, v. 32:2, p. 181-192, 2003.
- MACIEL, D. C.; ELÓI, L. M. H. **Compostos fenólicos em diferentes marcas de cerveja: comparação qualitativa de diferentes marcas e sua relação com a saúde humana**. Revista Uniara. v.16, no1, p. 41-52, 2013.
- MANEESRIRAJ, P.; PHETKOA, S.; NARKRUGSAW. **Starch Phosphate production by microwave technique**. Kasetsart J. (Nat. Sci) 32:234-241, 1998.
- MARTINEZ, C.E., GARCIA, F.M.S., TORRADO, A.A., PASTRANA, C.L.M., SIMAL, G. **Liquid chromatography for the determination of polyphenols in beers**. Beer in Health and Disease Prevention. Elsevier, San Diego, USA, p.281–292, 2009.
- MENDES, M. L. M. **Caracterização para fins industriais dos amidos nativos e modificados extraídos de amêndoas de sementes de manga, variedade “Tommy Atkins”**. 2011. 115 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Pós- graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI FILHO, J. Atividade Antioxidante das Especiarias Mostarda, Canela e Erva-doce em Sistemas Aquoso e Lipídico. **Nutrire – Rev. Soc. Brás. Alim. Nutr. - Journal. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, v. 25, p. 44-45, 2003.
- MORRISON, W.R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. **Cereal Foods World**, v.40, p.437-446, 1995.
- MUHAMMAD, K. Effect of pH on phosphorylation of sago starch. **Carbohydrate Polymers**, 42, 85-90, 2000.
- NABESHIMA, H. A.; EL-DASH, A. Modificação química da farinha de arroz como alternativa para o aproveitamento dos subprodutos do beneficiamento do arroz. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 107-120, 2004.
- NACHEL, M. **Homebrewing for Dummies**. 2 ed. Canada: Wiley Publishing, p. 433, 2008.
- NAKAMURA, Tieme; COICHEV, Nina; MOYA, Horacio Dorigan. **Modified CUPRAC spectrophotometric quantification of total polyphenol content in beer samples using Cu (II)/neocuproine complexes**. Journal of Food Composition and Analysis. v.28, p. 126-134, 2012.
- NARDINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C.; GHISELLI, A. Phenolic acids from beer are absorbed and extensively metabolized in humans. **The Journal of Nutritional Biochemistry**. v.17, p 14-22, 2006.
- NIELSEN, H.; ERDAL, K. The degree of fermentation. **Scandinavian brewers review**. 2005.
- NWOKOCHA, L. M.; AVIARA, N.; SENAN, C.; WILLIAMS, P. A. A comparative study of some properties of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) and cocoyam (*Colocasia esculenta*, Linn) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 362–367, 2009.
- NWOKOCHA, L. M.; WILLIAMS, P. A. Some properties of white and yellow plantain (*Musa paradisiaca*, Normalis) starches. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 76, p. 133-138, 2009.
- OLAYINKA, O. O.; ADEBOWALE, K. O.; OLU-OWOLABI, B. I. Effect of heatmoisture treatment on physicochemical properties of white sorghum starch. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 2, p. 225-230, 2008.

OSMAN, A.M, COVERDALE, S.M, ONLEY-WATSON K, BELL D, HEALY P. The gel filtration chromatographic-profiles of proteins and peptides of wort and beer: effects of processing - malting, mashing, kettle boiling, fermentation and filtering. **Journal of the Institute of Brewing**. 109(1):41-50, 2003.

PASCOE, H.M., AMES, J.M. AND CHANDRA, S., Critical Stages of the Brewing Process for Changes in Antioxidant Activity and Levels of Phenolic Compounds in Ale. **J. Am. Soc. Brew. Chem.**, 61(4), 203-209, 2003.

PEDROSO, R.A. **Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru**. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 74p. (Dissertação de Mestrado) 2006.

PELLEGRINO, A. M.Q. **Estudos dos mecanismos envolvidos na precipitação das proteínas do soro de queijo com amido em reator de batelada**. 1987.116 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 1987.

PEREDA, J.A.O.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. Carbohidratos. *Tecnología de Alimentos – componentes dos alimentos e processos*. v 1. p. 64-80, 2005.

PEREIRA, L. D. **Caracterização do amido nativo e modificação química do amido da fruta-de-lobo (*solanum lycocarpum*) com tripolifosfato de sódio**.2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) - Programa de pós-graduação em ciências moleculares, Universidade Estadual de Goiás, Goiás, 2011.

PEREIRA, L. **Extração, caracterização e utilização das carragenanas**. Departamento de Botânica, Laboratório de Microscopia e Ficologia, Universidade de Coimbra, Portugal.28p. 2004.

PIACENTINI, M. A.; Kessbier - **Cerveja artesanal matogrossense**. Brazilian craftbrewing blog. 2011. Disponível no site:<<http://kessbier.blogspot.com.br/2011/09/o-processo-de-clarificacao-da-cerveja.html>>acesso em agosto 2015.

PLATA-OVIEDO, M. **Métodos de quantificação de etanol em destilados pelo método crioscópico**. Técnica de laboratório – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: UTFPR, 2009.

PLATA-OVIEDO, M. S. V.; CAMARGO, C. Effect of acid treatments and drying processes on physico-chemical and functional properties of cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, n. 1, p. 103-108, 1999.

POSADA, J. Cincia cervecera: Filtración. v. 3. Ed. Pollock. Madrid. España. p. 379-437, 1995.

RECHSTEINER, M. S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes**. 2009. 167 f. Tese (Doutorado em agronomia) – Programa de pós-graduação em Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu – SP, 2009.

REINOLD, M. R. **Manual Prático de Cervejaria**. 1.ed. São Paulo: Aden Editora,p.213, 1997.

RIBEIRO, A. P. R. **Estudo dos amidos de mandioca nativo, modificados e modificados combinados por via química para utilização na indústria alimentícia**. 2011. 111f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 2011.

- RIBEIRO, E. P., SERAVALLI, E.A.G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.
- RICHARDSON, S., GORTON, L. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. **Analytica Chimica Acta**, 497, 27–65, 2003.
- ROCHA, DEMIATE, FRANCO, **Características estruturais e físico-químicas de amidos de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*)**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, p. 620-628, 2008.
- ROVALETTI, M. M. L.; BENÍTEZ, E. I.; NANCY M.J. MARTINEZ A.; PERUCHENA N. M.; SOSA, G. L.; LOZANO, J. E. Polysaccharides influence on the interaction between tannic acid and haze active proteins in beer. **Food Research International**. 62. p.779–785, 2014.
- RYDER D. S., POWER J. Miscellaneous Ingredients in Aid of the Process. **Handbook of Brewing**. Cap. 9, p. 333-378, 2006.
- SANCHÉZ-RIVERA, M.M. ; GARCÍA-SUÁREZ, F.J.L ; VALLE, M. V. del; GUTIERREZ-MERAZ, F.; BELLO-PÉREZ, L.A. Partial characterization of banana starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, n. 62, p. 50–56, 2005.
- SANDHU, K.S.; KAUR, M.; SINGH, N.; LIM, S. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **LWT- Food Science and Technology**, v.41, p.1000-1010, 2008.
- SANDHYA RANI, M.R.; BHATTACHARAYA, K.R. Rheology of rice-flour pastes: effect of variety, concentration, and temperature and time of cooking. **Journal of Texture Studies**, v. 20, n. 2, p. 127–137, 1989.
- SANGSEETHONG, K.; LERTPHANICH, S.; SRIROTH, K. Physicochemical properties of oxidized cassava starch prepared under various alkalinity levels. **Starch/Stärke**,v. 61, p. 92–100, 2009.
- SANGSEETHONG, K.; TERMVEJSAYANON, N.; SRIROTH, K. Characterization of physicochemical properties of hypochlorite and peroxide-oxidized cassava starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 446-453, mai., 2010.
- SCHIRMER, M. A.; TOLEDO, M. C. F.; REYS, F. G. R. Amido fosfatado de milho. Parte I. Efeito da temperatura e tempo de tratamento térmico. **Boletim SBCTA**. v. 20, p. 55-66, 1986.
- SCHMIDT, M.; CABELLO, C. **Estudo de propriedades de pasta de amidos de mandioca modificados com tripolifosfato e trimetafosfato**. XIII Congresso brasileiro de mandioca. 2009.
- SILVA, P. L. **Desenvolvimento de blendas de amido de inhame modificado com quitosana e PVA**. 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.
- SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications- A review. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 1, p. 1-22, 2007.
- SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, Thermal and Rheological Properties of Starches from Different Botanical Sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.
- SINGLETON, V.L. & ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144-158, 1965.

- SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alim. Nutr.** Araraquara. v.19, n.4, p. 491-498, 2008.
- SIQUEIRA, P. B.; MACEDO, G. A.; BOLINI, H. M. A. Estudo da cinética bioquímica e sensorial de diferentes tipos de cervejas brasileiras. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos - **Universidade Estadual de Campinas**). Campinas – SP, 2007.
- SITOHY, M. Z. Physicochemical properties of different types of starch phosphate monoesters. **Starch/Stärke**. v.52, n.4, p.101-105, 2000.
- SIVAK, M.N.; PREISS, J. Industrial Applications of starch. em: **Starch: basic science to biotechnology**. Advances in Food Nutrition Research. 41, 163-170, 1998.
- SMITH, R. J. Characterization and analysis of starches. In: WHISTLER, R.L.; PASCHALL, E.F. **Starch: chemistry and technology**. v. 2, New York: Academic Press, 1967.
- SOLOMON, O. F.; CIUTA, I. Z. Determination de la viscosité intrinsèque de solutions de polymères par uma simple détermination de la viscosité. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 6, p. 683-686, 1962.
- SONG, L.; SANG, Y.; CAI, L.; SHI, Y. C.; FARRAH, S. R.; BANEY, R. H. The effect of cooking on the antibacterial activity of the dialdehyde starch suspensions. **Starch/Stärke**, v. 62, p. 458-466, mar. 2010.
- SPIER, F. **Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Agroindustrial) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- SWINKELS, J.J.M. **Industrial starch chemistry: Properties, modification and application of starches**. Veendam: AVEBE, 2002.
- SZWAJGIER, D.; BANCARZEWSKA, M. Changes in the phenolic acid content during wort boiling and whirlpool. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. **Scientiarum polonorum ACTA**, 2011.
- TAGGART, P. Starch as an ingredient: manufacture and applications. In: Eliasson, AC. Starch in food: Structure, function and applications. **Boca Raton**: CRC Press; 2004.
- TALUFO, P. A. R.; QUEIRÓS, R. B.; MATOS, C. M. D.; SALES, M. G. F. **Control and comparison of the antioxidant capacity of beers**. Food Research International. v. 43, p.1702-1709, 2010.
- TAVARES, A. C. K.; ZANATTA, E.; ZAVAREZE, E. da R.; HELBIG, E.; DIAS, A. R. G. The effects of acid and oxidative modification on the expansion properties of rice flours with varying levels of amylase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 1213-1219, out. 2010.
- TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 551-557, 1990.
- VAN DER SMAN, R. G. M., VOLLEBREGTA, H. M., MEPSCHEN, A., & NOORDMAN, T. R. Review of hypotheses for fouling during beer clarification using membranes. **Journal of Membrane Science**, 396, 22–31, 2012.

VANDERHAEGEN, B.; NEVEN, H.; COGHE, S.; VERSTREPEN, K. J.; VERACHTERT, H.; DERDELINCKX, G. Evolution of chemical and sensory properties during aging of top-fermented beer. **J. agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.6782-6790, 2003.

VENTURINI FILHO, W. G., CEREDA, M. P. **Farinhas de mandioca como adjunto de malte na fabricação de cerveja: avaliação físico-química e sensorial**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.16, n.1, 1996.

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

WALKER, GM. **Yeast Metabolism**. In: Yeast Physiology and Biotechnology (ed. John Wiley & Sons), pp. 203-264, Wiley, Scotland, 2000.

WANG S.; CHEN X.; SHI M.; ZHAO L.; LI W.; CHEN Y.; LU M.; WU J.; YUAN Q.; LI Y. Absorption of whey protein isolated (WPI)-stabilized  $\beta$ -Carotene emulsions by oppositely charged oxidized starch microgels. **Food Research International**.67,315-322, 2015.

WANG, Y.J.; WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, 52, 207-217, 2003.

WARD, I. L; LEATHER, R. V. The effect of wort pH on copper fining performace. **Copyright - Journal of the Institute of Brewing**. 4p, 1995.

WARD, I.L. Wort and beer clarification manual. [S.l.]: **Brewers Supply Group**. [S.d.]. Disponível em:<[http://www.brewerssupplygroup.com/FileCabinet/WortandBeer\\_Fining\\_Manual\[1\].pdf](http://www.brewerssupplygroup.com/FileCabinet/WortandBeer_Fining_Manual[1].pdf)>. Acesso em agosto de 2015.

WATTANCHANT, S.; MUHAMMAD, K.; HASHIM, D.; RAHMAN, R.A. Effect of cross-linking reagents and hydroxypropylation levels on dualmodified sago starch properties. **Food Chemistry**, 80, p. 463-471, 2003.

WEBER, F.H.; COLLARES-QUEIROZ F.P.; CHANG, Y.K. Caracterização físicoquímica, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.748-753, 2009.

WILLIAM CANCELLARA, W.; LUSA, C. M. **Tecnologia Cervejeira**. Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC. Santa Catarina. p.83, 2006.

WOLFE, E.; BICKHAM, S.; HOUSEMAN, D.; WOTRING, G., SAPSIS, D.; GAROFALO, P.; HANNING, C.; **guia de estudo para os exames de cerveja do bjcp**. BJCP. 79p. 2012.

WOOTON, M.; BAMUNUARACHCHI, A. Watwe biding capacity of commercial produced native and modified starches. **Starch/Starke**, v.30, p.306-309, 1978.

WURZBURG, O.B. Cross-linked starches. In: O.B. Wurzburg (Ed.), **Modified starches: Properties and uses**, p. 41-53. **Boca Raton**, FL: CRC Press, 1986.

XIE, S.X.; LIU, Q; CUI, S.W. Starch modification and applications. In: CUI, S. W. **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties**. Boca Raton: CRC Press, 2005.

YONEMOTO, P. G. **Efeito do tamanho dos grânulos nas características estruturais e físico-químicas do amido de trigo**. 2006, 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.

YU, J.; CHANG, P. R.; MA, X. The preparation and properties of dialdehyde starch and thermoplastic dialdehyde starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 296-300, jan. 2010.

ZAVAREZE, E. da R; PEREIRA, J. M.; MOURA, F. A.; SPIER, F.; HELBIG, E. ; DIAS, A. R. G. Teor de amido resistente e perfil de textura de amidos de arroz com diferentes níveis de amilose modificados hidrotermicamente. **Braz. J. Food Technol**, v. IISSA, p. 96-101, 2010.

ZHANG, S. D.; WANG, X. L.; ZHANG, Y. R.; YANG, K. K.; WANG, Y. Z. Preparation of a new dialdehyde starch derivative and investigation of its thermoplastic properties. **Journal of Polymer Research**, v. 17, n. 3, p. 439-446, 2010.

ZHAO J.; CHEN, Z.; JIN, Z.; WAARD, P.; BUWALD, P.; GRUPPEN, H.; SCHOLS, H. Level and position of substituents in cross-linked andhydroxypropylated sweet potato starches using nuclearmagnetic resonance spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**. 131, 424–431, 2015.

ZHAO, H.; CHEN, W.; LU, J.; ZHAO, M. **Phenolic profiles and antioxidant activities of commercial beers**. Food Chemistry. v. 119, p.1150-1158, 2010.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, 849-868, 2002.

ZUPPARDO, B. **Uso da goma Oenogum para a estabilização coloidal e de espuma em cerveja**. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, São Paulo, 2010.

## 8 ANEXOS

**Anexo 1.** Poder de inchamento médio obtido após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
1. AMiN	2,14 ± 0,09 <sup>cD</sup>	6,61 ± 0,19 <sup>bCD</sup>	7,39 ± 0,11 <sup>bD</sup>	9,53 ± 0,26 <sup>aB</sup>
2. MiO (1%)	2,08 ± 0,03 <sup>dD</sup>	7,45 ± 0,19 <sup>cCD</sup>	10,29 ± 0,07 <sup>bD</sup>	12,58 ± 0,22 <sup>aBC</sup>
3. MiO (2%)	2,17 ± 0,05 <sup>bD</sup>	7,23 ± 0,17 <sup>abCD</sup>	16,11 ± 0,54 <sup>aC</sup>	14,22 ± 0,62 <sup>aBC</sup>
4. MaO (1%)	5,80 ± 0,35 <sup>bC</sup>	6,36 ± 0,56 <sup>bC</sup>	10,61 ± 0,87 <sup>aD</sup>	7,24 ± 0,28 <sup>bB</sup>
5. MaO (2%)	4,53 ± 0,12 <sup>cCD</sup>	5,50 ± 0,41 <sup>bcC</sup>	11,31 ± 0,67 <sup>aD</sup>	8,81 ± 0,24 <sup>abB</sup>
6. AMaN	4,43 ± 0,15 <sup>bCD</sup>	8,75 ± 0,23 <sup>abC</sup>	10,16 ± 0,39 <sup>abD</sup>	13,12 ± 0,30 <sup>aBC</sup>
7. MiFB	9,09 ± 0,14 <sup>cB</sup>	13,82 ± 0,22 <sup>bB</sup>	17,39 ± 0,67 <sup>bBC</sup>	22,35 ± 0,60 <sup>aAB</sup>
8. MiFA	15,00 ± 1,10 <sup>bA</sup>	18,68 ± 0,62 <sup>bA</sup>	23,44 ± 0,65 <sup>abA</sup>	30,82 ± 1,31 <sup>aA</sup>
9. MaFB	11,60 ± 0,25 <sup>cB</sup>	14,31 ± 0,34 <sup>bB</sup>	20,57 ± 0,54 <sup>aAB</sup>	22,26 ± 0,49 <sup>aAB</sup>
10. MaFA	10,04 ± 0,09 <sup>dB</sup>	16,70 ± 0,74 <sup>cA</sup>	22,09 ± 0,08 <sup>bA</sup>	25,69 ± 0,84 <sup>aA</sup>

AMiN, amido de milho nativo; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. AMaN, amido de mandioca nativo; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

**Anexo 2.** Solubilidade após a modificação por oxidação e fosfatação nos amidos de milho e mandioca.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
1. AMiN	0,85 ± 0,04 <sup>cD</sup>	2,70 ± 0,09 <sup>bD</sup>	3,67 ± 0,12 <sup>bE</sup>	6,62 ± 0,06 <sup>aC</sup>
2. MiO (1%)	1,69 ± 0,08 <sup>cD</sup>	6,94 ± 0,17 <sup>bCD</sup>	12,65 ± 0,56 <sup>aDE</sup>	13,47 ± 0,55 <sup>aC</sup>
3. MiO (2%)	3,75 ± 0,15 <sup>bD</sup>	3,97 ± 0,38 <sup>bD</sup>	23,49 ± 0,64 <sup>abCD</sup>	61,11 ± 2,10 <sup>aAB</sup>
4. MaO (1%)	10,89 ± 0,54 <sup>bC</sup>	11,18 ± 0,52 <sup>bCD</sup>	48,25 ± 1,80 <sup>aB</sup>	54,47 ± 2,52 <sup>aAB</sup>
5. MaO (2%)	14,78 ± 0,53 <sup>cBC</sup>	14,99 ± 0,58 <sup>cBCD</sup>	54,48 ± 2,04 <sup>bAB</sup>	75,32 ± 2,99 <sup>aA</sup>
6. AMaN	2,43 ± 0,07 <sup>cD</sup>	4,18 ± 0,19 <sup>cD</sup>	25,43 ± 1,23 <sup>bC</sup>	53,17 ± 0,25 <sup>aAB</sup>
7. MiFB	5,81 ± 0,21 <sup>bD</sup>	8,05 ± 0,18 <sup>bCD</sup>	11,25 ± 0,34 <sup>bE</sup>	34,70 ± 1,53 <sup>aBC</sup>
8. MiFA	41,92 ± 2,02 <sup>bA</sup>	49,71 ± 0,63 <sup>bA</sup>	60,28 ± 2,41 <sup>abA</sup>	74,17 ± 3,18 <sup>aA</sup>
9. MaFB	14,33 ± 0,53 <sup>cC</sup>	27,98 ± 0,29 <sup>bB</sup>	32,95 ± 0,36 <sup>bC</sup>	66,41 ± 2,98 <sup>aAB</sup>
10. MaFA	19,33 ± 0,37 <sup>cB</sup>	20,61 ± 0,85 <sup>cBC</sup>	27,52 ± 0,78 <sup>bC</sup>	56,88 ± 1,89 <sup>aAB</sup>

AMiN, amido de milho nativo; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. AMaN, amido de mandioca nativo; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).



### Anexo 3. Compostos fenólicos durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.

Amostras	Mosto Quente	Mosto Frio	Fermentação	Maturação	Produto Final
1. SC	176,5 ± 7,55 <sup>c A</sup>	145,50 ± 6,56 <sup>d A</sup>	288,83 ± 9,02 <sup>a A</sup>	250,50 ± 11,53 <sup>b A</sup>	247,17 ± 2,52 <sup>b A</sup>
2. MiO (1%)	174,17 ± 2,08 <sup>c A</sup>	141,50 ± 7,00 <sup>d A</sup>	272,17 ± 13,20 <sup>a A</sup>	239,17 ± 5,03 <sup>b AB</sup>	234,17 ± 4,51 <sup>b A</sup>
3. MiO (2%)	155,17 ± 6,66 <sup>c BC</sup>	78,83 ± 3,51 <sup>d E</sup>	195,17 ± 9,29 <sup>b CD</sup>	234,17 ± 4,73 <sup>a ABC</sup>	168,50 ± 8,19 <sup>c B</sup>
4. MaO (1%)	115,50 ± 4,00 <sup>bc E</sup>	104,17 ± 5,03 <sup>c BC</sup>	199,50 ± 8,89 <sup>a CD</sup>	213,17 ± 7,09 <sup>a CD</sup>	128,83 ± 1,15 <sup>b C</sup>
5. MaO (2%)	130,50 ± 5,29 <sup>c DE</sup>	107,50 ± 5,29 <sup>d B</sup>	214,50 ± 10,39 <sup>a BC</sup>	223,83 ± 9,29 <sup>a BCD</sup>	152,50 ± 7,00 <sup>b B</sup>
6. GCar	168,50 ± 5,57 <sup>b AB</sup>	83,83 ± 4,04 <sup>c DE</sup>	215,17 ± 8,14 <sup>a BC</sup>	208,17 ± 5,77 <sup>a DE</sup>	156,17 ± 7,64 <sup>b B</sup>
7. MiFB	130,17 ± 3,79 <sup>c DE</sup>	111,17 ± 4,16 <sup>d B</sup>	219,50 ± 10,00 <sup>a BC</sup>	218,17 ± 3,21 <sup>a BCD</sup>	162,83 ± 3,79 <sup>b B</sup>
8. MiFA	131,83 ± 6,51 <sup>b DE</sup>	84,83 ± 2,08 <sup>c DE</sup>	182,83 ± 9,07 <sup>a D</sup>	188,17 ± 8,08 <sup>a E</sup>	100,50 ± 4,58 <sup>c D</sup>
9. MaFB	152,17 ± 6,35 <sup>b BC</sup>	103,17 ± 4,73 <sup>c BC</sup>	227,83 ± 7,64 <sup>a B</sup>	214,17 ± 7,57 <sup>a CD</sup>	167,17 ± 8,02 <sup>b B</sup>
10. MaFA	141,50 ± 6,56 <sup>b CD</sup>	93,17 ± 4,04 <sup>c CD</sup>	221,50 ± 5,29 <sup>a BC</sup>	219,50 ± 10,00 <sup>a BCD</sup>	158,50 ± 4,58 <sup>b B</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

### Anexo 4. Teor de flavonóides durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Amostras	Mosto Quente	Mosto Frio	Fermentação	Maturação	Produto Final
1. SC	137,15 ± 3,00 <sup>a A</sup>	55,32 ± 2,02 <sup>d A</sup>	99,65 ± 3,50 <sup>b A</sup>	70,98 ± 3,21 <sup>c A</sup>	68,65 ± 3,28 <sup>c A</sup>
2. MiO (1%)	114,98 ± 5,53 <sup>a BC</sup>	41,48 ± 0,29 <sup>d C</sup>	79,82 ± 3,88 <sup>b BC</sup>	70,82 ± 2,25 <sup>bc A</sup>	66,48 ± 2,89 <sup>c A</sup>
3. MiO (2%)	102,15 ± 4,92 <sup>a CD</sup>	26,98 ± 1,26 <sup>c E</sup>	68,98 ± 3,33 <sup>b E</sup>	65,65 ± 3,00 <sup>b A</sup>	32,32 ± 1,04 <sup>c CD</sup>
4. MaO (1%)	118,98 ± 4,04 <sup>a B</sup>	21,82 ± 1,04 <sup>d FG</sup>	76,32 ± 1,61 <sup>b BCD</sup>	57,98 ± 1,61 <sup>c B</sup>	27,32 ± 1,26 <sup>d D</sup>
5. MaO (2%)	94,98 ± 4,65 <sup>a D</sup>	25,32 ± 1,26 <sup>e EF</sup>	70,48 ± 1,04 <sup>b DE</sup>	57,48 ± 2,75 <sup>c B</sup>	43,65 ± 1,80 <sup>d B</sup>
6. GCar	106,82 ± 5,20 <sup>a BCD</sup>	19,65 ± 0,87 <sup>d G</sup>	69,82 ± 1,04 <sup>b DE</sup>	64,98 ± 1,89 <sup>b A</sup>	41,98 ± 0,29 <sup>c B</sup>
7. MiFB	110,98 ± 5,48 <sup>a BC</sup>	33,48 ± 1,53 <sup>d D</sup>	80,32 ± 1,04 <sup>b B</sup>	51,48 ± 2,47 <sup>c BC</sup>	43,98 ± 2,02 <sup>c B</sup>
8. MiFA	119,48 ± 5,92 <sup>a B</sup>	22,82 ± 1,04 <sup>d FG</sup>	68,98 ± 1,04 <sup>b E</sup>	46,98 ± 2,25 <sup>c CD</sup>	11,32 ± 0,29 <sup>e E</sup>
9. MaFB	116,82 ± 5,80 <sup>a BC</sup>	46,82 ± 2,02 <sup>c B</sup>	72,98 ± 3,40 <sup>b CDE</sup>	41,32 ± 2,02 <sup>c D</sup>	44,15 ± 2,18 <sup>c B</sup>
10. MaFA	120,98 ± 5,86 <sup>a B</sup>	23,15 ± 1,00 <sup>e EFG</sup>	66,82 ± 2,25 <sup>b E</sup>	54,32 ± 1,26 <sup>c B</sup>	35,65 ± 0,87 <sup>d C</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

### Anexo 5. Método de Biureto para eliminação de proteínas durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.

Amostras	Mosto Quente	Mosto Frio	Fermentação	Maturação	Produto Final
1. SC	51,07 ± 1,26 <sup>c A</sup>	50,23 ± 1,89 <sup>c A</sup>	79,07 ± 1,53 <sup>a A</sup>	76,57 ± 3,82 <sup>a A</sup>	67,90 ± 2,29 <sup>b A</sup>
2. MiO (1%)	40,73 ± 1,76 <sup>c B</sup>	28,90 ± 0,50 <sup>d C</sup>	65,57 ± 3,21 <sup>a B</sup>	47,07 ± 1,76 <sup>b B</sup>	49,57 ± 1,61 <sup>b B</sup>
3. MiO (2%)	28,40 ± 1,00 <sup>d D</sup>	12,40 ± 0,50 <sup>e I</sup>	59,73 ± 1,76 <sup>a C</sup>	41,73 ± 1,61 <sup>b BCD</sup>	32,73 ± 1,04 <sup>c DE</sup>
4. MaO (1%)	25,73 ± 1,15 <sup>d DE</sup>	15,07 ± 0,76 <sup>e GH</sup>	54,57 ± 2,02 <sup>a CD</sup>	42,57 ± 0,58 <sup>b BC</sup>	29,73 ± 0,76 <sup>c E</sup>
5. MaO (2%)	32,07 ± 1,53 <sup>c C</sup>	20,07 ± 0,76 <sup>d F</sup>	50,40 ± 2,29 <sup>a DE</sup>	38,57 ± 1,26 <sup>b CD</sup>	38,57 ± 1,26 <sup>b C</sup>
6. GCar	25,23 ± 1,04 <sup>c DE</sup>	14,73 ± 0,29 <sup>d GH</sup>	48,73 ± 1,15 <sup>a E</sup>	36,40 ± 1,32 <sup>b D</sup>	35,07 ± 1,04 <sup>b CD</sup>
7. MiFB	27,57 ± 1,15 <sup>c D</sup>	15,73 ± 0,58 <sup>d G</sup>	40,73 ± 0,76 <sup>a G</sup>	37,73 ± 3,01 <sup>ab CD</sup>	36,07 ± 1,26 <sup>b CD</sup>
8. MiFA	22,73 ± 1,04 <sup>c E</sup>	26,07 ± 1,04 <sup>b D</sup>	41,40 ± 1,32 <sup>a FG</sup>	28,40 ± 0,50 <sup>b E</sup>	17,57 ± 0,76 <sup>d F</sup>
9. MaFB	23,57 ± 0,76 <sup>c E</sup>	20,90 ± 0,87 <sup>c E</sup>	42,57 ± 0,58 <sup>a FG</sup>	37,57 ± 1,76 <sup>b CD</sup>	36,90 ± 1,80 <sup>b C</sup>
10. MaFA	22,57 ± 0,29 <sup>d E</sup>	36,23 ± 1,26 <sup>b B</sup>	46,73 ± 2,25 <sup>a EF</sup>	30,07 ± 1,04 <sup>c E</sup>	19,57 ± 0,76 <sup>d F</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

### Anexo 6. Efeito dos agentes clarificantes na absorvância (600nm) da cerveja artesanal.

Amostras	Mosto Quente	Mosto Frio	Fermentação	Maturação	Produto Final
1. SC	0,663 ± 0,015 <sup>a A</sup>	0,461 ± 0,007 <sup>b B</sup>	0,383 ± 0,003 <sup>c A</sup>	0,375 ± 0,010 <sup>c A</sup>	0,360 ± 0,056 <sup>c A</sup>
2. MiO (1%)	0,595 ± 0,002 <sup>a BC</sup>	0,430 ± 0,002 <sup>b C</sup>	0,361 ± 0,010 <sup>c B</sup>	0,310 ± 0,018 <sup>d B</sup>	0,274 ± 0,002 <sup>e B</sup>
3. MiO (2%)	0,587 ± 0,022 <sup>a C</sup>	0,322 ± 0,005 <sup>b H</sup>	0,191 ± 0,001 <sup>c F</sup>	0,149 ± 0,002 <sup>d E</sup>	0,061 ± 0,002 <sup>e D</sup>
4. MaO (1%)	0,418 ± 0,007 <sup>a H</sup>	0,371 ± 0,002 <sup>b G</sup>	0,207 ± 0,001 <sup>c E</sup>	0,155 ± 0,002 <sup>d E</sup>	0,054 ± 0,002 <sup>e D</sup>
5. MaO (2%)	0,553 ± 0,005 <sup>a D</sup>	0,419 ± 0,002 <sup>b E</sup>	0,308 ± 0,003 <sup>c C</sup>	0,257 ± 0,002 <sup>d C</sup>	0,153 ± 0,023 <sup>e C</sup>
6. GCar	0,149 ± 0,003 <sup>b I</sup>	0,114 ± 0,003 <sup>c I</sup>	0,179 ± 0,002 <sup>a G</sup>	0,152 ± 0,003 <sup>b E</sup>	0,055 ± 0,001 <sup>d D</sup>
7. MiFB	0,492 ± 0,005 <sup>a G</sup>	0,324 ± 0,001 <sup>b H</sup>	0,209 ± 0,001 <sup>c E</sup>	0,116 ± 0,001 <sup>d F</sup>	0,051 ± 0,001 <sup>e D</sup>
8. MiFA	0,508 ± 0,003 <sup>a F</sup>	0,381 ± 0,001 <sup>b F</sup>	0,072 ± 0,005 <sup>c H</sup>	0,064 ± 0,001 <sup>d H</sup>	0,039 ± 0,006 <sup>e D</sup>
9. MaFB	0,608 ± 0,003 <sup>a B</sup>	0,511 ± 0,001 <sup>b A</sup>	0,235 ± 0,003 <sup>c D</sup>	0,196 ± 0,001 <sup>d D</sup>	0,058 ± 0,001 <sup>e D</sup>
10. MaFA	0,527 ± 0,011 <sup>a E</sup>	0,425 ± 0,001 <sup>b D</sup>	0,073 ± 0,006 <sup>cd H</sup>	0,078 ± 0,002 <sup>c G</sup>	0,065 ± 0,001 <sup>d D</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

**Anexo 7. Reação dos agentes clarificantes na turbidez da cerveja artesanal.**

Amostras	Mosto Quente	Mosto Frio	Fermentação	Maturação	Produto Final
1. SC	380,33 ± 1,15 <sup>a A</sup>	281,33 ± 1,15 <sup>b A</sup>	258,70 ± 1,74 <sup>c A</sup>	235,10 ± 2,60 <sup>d A</sup>	206,98 ± 0,22 <sup>e A</sup>
2. MiO (1%)	358,00 ± 3,46 <sup>a B</sup>	245,33 ± 1,15 <sup>b C</sup>	187,53 ± 0,64 <sup>c B</sup>	181,07 ± 0,12 <sup>d B</sup>	140,63 ± 0,70 <sup>e B</sup>
3. MiO (2%)	339,33 ± 1,15 <sup>a C</sup>	188,67 ± 2,31 <sup>b F</sup>	91,17 ± 0,31 <sup>d F</sup>	102,67 ± 1,15 <sup>c C</sup>	22,40 ± 0,35 <sup>e C</sup>
4. MaO (1%)	267,67 ± 1,15 <sup>a I</sup>	226,33 ± 2,31 <sup>b D</sup>	106,33 ± 2,31 <sup>c E</sup>	74,03 ± 0,12 <sup>d E</sup>	7,58 ± 0,03 <sup>e G</sup>
5. MaO (2%)	329,67 ± 2,31 <sup>a D</sup>	212,33 ± 1,15 <sup>b E</sup>	138,33 ± 1,15 <sup>c C</sup>	54,13 ± 0,12 <sup>d F</sup>	5,81 ± 0,01 <sup>e I</sup>
6. GCar	80,73 ± 1,68 <sup>a J</sup>	63,33 ± 1,15 <sup>b G</sup>	38,27 ± 0,12 <sup>c G</sup>	30,83 ± 0,42 <sup>d G</sup>	6,67 ± 0,03 <sup>e H</sup>
7. MiFB	284,00 ± 0,99 <sup>a G</sup>	223,67 ± 2,31 <sup>b D</sup>	108,33 ± 2,31 <sup>c E</sup>	52,83 ± 0,23 <sup>d F</sup>	8,40 ± 0,03 <sup>e F</sup>
8. MiFA	297,67 ± 2,31 <sup>a F</sup>	211,33 ± 8,33 <sup>b E</sup>	33,20 ± 0,40 <sup>c I</sup>	26,63 ± 0,23 <sup>d H</sup>	4,75 ± 0,02 <sup>e J</sup>
9. MaFB	305,67 ± 2,31 <sup>a E</sup>	265,00 ± 3,46 <sup>b B</sup>	111,33 ± 2,31 <sup>c D</sup>	91,77 ± 0,31 <sup>d D</sup>	9,39 ± 0,01 <sup>e E</sup>
10. MaFA	271,67 ± 2,31 <sup>a H</sup>	215,67 ± 1,15 <sup>b E</sup>	36,07 ± 0,23 <sup>c H</sup>	23,63 ± 0,31 <sup>d I</sup>	12,33 ± 0,12 <sup>e D</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

**Anexo 8. Resultados de viscosidade relativa durante o processo de obtenção de cerveja artesanal.**

Amostras	Mosto Quente	Mosto Frio	Fermentação	Maturação	Produto Final
1. SC	1,85 ± 0,004 <sup>a B</sup>	1,79 ± 0,004 <sup>b B</sup>	1,76 ± 0,003 <sup>c A</sup>	1,75 ± 0,003 <sup>d A</sup>	1,74 ± 0,004 <sup>e A</sup>
2. MiO (1%)	1,70 ± 0,003 <sup>a D</sup>	1,68 ± 0,009 <sup>b C</sup>	1,65 ± 0,014 <sup>c B</sup>	1,58 ± 0,003 <sup>d D</sup>	1,57 ± 0,025 <sup>d B</sup>
3. MiO (2%)	1,54 ± 0,001 <sup>c G</sup>	1,61 ± 0,002 <sup>a F</sup>	1,59 ± 0,005 <sup>b C</sup>	1,41 ± 0,007 <sup>d G</sup>	1,20 ± 0,004 <sup>e E</sup>
4. MaO (1%)	1,58 ± 0,008 <sup>b F</sup>	1,80 ± 0,004 <sup>a A</sup>	1,57 ± 0,001 <sup>c E</sup>	1,45 ± 0,004 <sup>d F</sup>	1,19 ± 0,007 <sup>e F</sup>
5. MaO (2%)	1,61 ± 0,008 <sup>b E</sup>	1,68 ± 0,002 <sup>a C</sup>	1,60 ± 0,003 <sup>b C</sup>	1,58 ± 0,019 <sup>c D</sup>	1,42 ± 0,016 <sup>d C</sup>
6. GCar	1,60 ± 0,014 <sup>b E</sup>	1,57 ± 0,003 <sup>d H</sup>	1,58 ± 0,001 <sup>c D</sup>	1,65 ± 0,012 <sup>a B</sup>	1,42 ± 0,005 <sup>e C</sup>
7. MiFB	1,75 ± 0,022 <sup>a C</sup>	1,63 ± 0,006 <sup>b E</sup>	1,51 ± 0,005 <sup>c F</sup>	1,48 ± 0,001 <sup>d E</sup>	1,25 ± 0,004 <sup>e D</sup>
8. MiFA	1,94 ± 0,013 <sup>a A</sup>	1,67 ± 0,009 <sup>b D</sup>	1,60 ± 0,010 <sup>c C</sup>	1,48 ± 0,003 <sup>d E</sup>	1,06 ± 0,017 <sup>e G</sup>
9. MaFB	1,83 ± 0,019 <sup>a B</sup>	1,59 ± 0,002 <sup>c G</sup>	1,49 ± 0,001 <sup>d G</sup>	1,63 ± 0,001 <sup>b C</sup>	1,20 ± 0,011 <sup>e EF</sup>
10. MaFA	1,60 ± 0,030 <sup>a EF</sup>	1,58 ± 0,016 <sup>a G</sup>	1,49 ± 0,006 <sup>b G</sup>	1,45 ± 0,005 <sup>c F</sup>	1,26 ± 0,004 <sup>d D</sup>

SC, amostra sem clarificante; MiO (1%), amido de milho oxidado 1%; MiO (2%), amido de milho oxidado 2%; MaO (1%), amido de mandioca oxidado 1%; MaO (2%), amido de mandioca oxidado 2%. GCar, goma carragena; MiFB, amido de milho fosfatado baixo (2,8%); MiFA, amido de milho fosfatado alto (8,6%); MaFB, amido de mandioca fosfatado baixo (2,8%); MaFA, amido de mandioca fosfatado alto (8,6%).

\*Cada valor representa a média e o desvio padrão de três repetições.

\*\*Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

\*\*\*Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).