

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TAUÃ DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMIDOS DE BATATA OXIDADOS E
UTILIZADOS COMO CLARIFICANTE NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2016

TAUÃ DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMIDOS DE BATATA OXIDADOS E
UTILIZADOS COMO CLARIFICANTE NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento Acadêmico de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Plata Oviedo

CAMPO MOURÃO

2016



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Departamento Acadêmico de Alimentos
Curso de Engenharia de Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMIDOS DE BATATA OXIDADOS E
UTILIZADOS COMO CLARIFICANTE NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

por

TAUÃ DE OLIVEIRA

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 22 de novembro de 2016 às 10:20 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo
Orientador

Prof. Msc. Alexandre Santa Barbara Azevedo
Membro da banca

Profa. Dra. Ângela Maria Gozzo
Membro da banca

Nota: O documento original assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de prestar um agradecimento a minha família, que me dá forças e coragem para não me deixar abater diante as dificuldades da vida, sempre me iluminando com amor, carinho e bons conselhos. Se hoje tenho a oportunidade de estar face a este grande desafio que é a conclusão de um curso de graduação, o mérito é deles, que estiveram presentes em todos momentos e me muniram das ferramentas necessárias para que este feito fosse possível.

A meu pai Fernando e minha mãe Maryangela, pelo amor incondicional, pelos princípios morais, de caráter e os valores transmitidos, por não medirem esforços para me fazerem feliz, garantir minha integridade e me mostrarem os caminhos do bem. Agradeço ao meu pai Sergio e minha mãe Helen que, apesar de não serem meus pais biológicos, me adotaram e sempre me amaram como seu filho. Serei eternamente grato pelos ensinamentos e até mesmo pelas broncas e “puxões de orelha” porque sem eles, talvez, hoje não seria o homem que sou.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo por todo o conhecimento compartilhado, pela confiança depositada e pelas horas de muita paciência e auxílio durante meu trabalho. Hoje, mais do que um orientador, o considero um amigo. Agradeço também ao Prof. Dr. Bogdan Demczuk e a todos os professores da Coordenação de Engenharia de Alimentos que, pessoal ou academicamente, contribuíram com minha formação.

Agradeço a todos meus amigos que se fizeram presente durante esses anos, alguns estão comigo desde o começo, outros se mostraram bons amigos no decorrer desta caminhada e puderam contribuir com essa grande fase de crescimento pessoal e profissional. Vocês foram essenciais em minha formação. Agradeço a minha namorada, Simone, pelo apoio, companheirismo e paciência nos momentos mais difíceis dessa reta final, não me deixando faltar amparo e amor.

MUITO OBRIGADO!!!

RESUMO

OLIVEIRA, Tauã. **AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE AMIDOS DE BATATA OXIDADOS E UTILIZADOS COMO CLARIFICANTES NA PRODUÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL**. 71 f. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão. 2016.

O amido é um polissacarídeo presente em diversas espécies vegetais e atua como reserva energética para as plantas de forma análoga ao glicogênio no organismo humano. Devido a sua abundância e extrema importância em variadas aplicações tecnológicas dentro da indústria de alimentos e bebidas, faz-se necessário o estudo de aplicação dos mesmos como substituintes de ingredientes convencionais, visando aumento de eficiência e redução de custos de produção. Esta pesquisa teve por objetivo a avaliação do comportamento do amido de batata, um amido naturalmente dotado de alto grau de fosfatação, tanto nativo quanto oxidado, como agente clarificante no processo de fabricação de cervejas artesanais. Como parâmetro de comparação, utilizou-se a goma carragena, que atualmente é o clarificante mais utilizado na indústria cervejeira. A atuação da clarificação ocorre por meio do sequestro de proteínas presentes no mosto, positivamente carregadas, através da ação das cargas negativas dos grupamentos fosfato do amido de batata. O amido de batata foi oxidado a partir de solução de hipoclorito de sódio em tempos distintos (30 e 120 minutos), visando o aumento de suas cargas. Foram avaliadas as variações dos grupamentos carboxilas, fosfatos e viscosidade intrínseca dos amidos modificados, em relação ao amido nativo. Foi realizada também a caracterização físico-química das cervejas artesanais clarificadas com amido nativo, amidos oxidados, goma carragena e amostra controle. Assim, foi possível se concluir que o amido de maior teor de oxidação se mostra como uma alternativa viável a utilização da goma carragena, na clarificação de cervejas artesanais, em especial durante o período de maturação. Ainda que as medidas de turbidez, através da absorvância, se mostram levemente superiores as da goma carragena, o amido mais oxidado apresenta maior eficácia no sequestro de proteínas e compostos fenólicos da cerveja.

Palavras-chave: *clarificante, cerveja artesanal, amido oxidado.*

ABSTRACT

OLIVEIRA, Tauã. EVALUATION OF THE OXIDIZED POTATO STARCH BEHAVIOR USED AS BEER CLARIFIER. 71 p. 2016. Completion Course Work. Food Engineering. Federal University of Technology of Paraná. Campo Mourão. 2016.

Starches are polysaccharides present in several vegetable species and works as energetic reserve for plants just as glycogen do on human organism. Due to its abundance and extreme importance in several technological applications in the food and beverage industries, it's necessary to study its applications as substitute of the conventional ingredients, in a way to increase its efficiency and reducing production costs. This research has the objective of evaluating the potato starch behavior, since this kind of starch has a high rate of phosphate groups, and also oxidized starches as beer clarifiers in the brewing processes. As comparison parameter, it was used carrageenan, which is the most used beer clarifier in the brewing industry. The beer clarification happens by neutralization of the positive charges of the wort proteins with the negative charges of the oxidized potato starch phosphate groups. The potato starch was oxidized by sodium hypochlorite solution in different times (30 and 120 minutes), aiming the increase of those charges. It was evaluated the variation in the carboxyl groups, phosphate groups, and intrinsic viscosity of the modified starches, comparing them to the regular potato starch. It was also determined the physical and chemical characteristics of the beers clarified with the potato starch, oxidized starches, and carrageenan. It was possible to conclude that the most oxidized starch is a viable option to the use of the carrageenan when brewing craft beers, especially during the maturation. Even though the absorbance measured of the carrageenan samples were lower than the ones utilizing oxidized starches, the starches appeared to have a higher efficiency neutralizing phenolic compounds and proteins in the beer.

Key Words: *beer clarifier, craft beer, oxidized starches.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação de uma molécula de amido simples.....	15
Figura 2. Aroma wheel.....	21
Figura 3. Fluxograma do processo de produção de cerveja.....	25
Figura 4. Moinho de rolos.....	26
Figura 5. Formulação da cerveja American Pale Ale, utilizando software BeerSmith 2.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Insumos utilizados na formulação da cerveja APA.....	31
Tabela 2. Descrição das rampas de temperaturas durante o processo.....	38
Tabela 3. Descrição das adições de lúpulos durante a fervura.....	39
Tabela 4. Eficiência do processo de oxidação dos amidos.....	45
Tabela 5. Teor de grupos carboxila presentes e adquiridos.....	46
Tabela 6. Resultados da análise de viscosidade intrínseca.....	47
Tabela 7. Teor de grupamentos fosfato.....	48
Tabela 8. Volume clarificado durante o <i>Hot-Break</i>	51
Tabela 9. Volume clarificado durante o <i>Cold-Break</i>	52
Tabela 10. Composição de compostos fenólicos no decorrer da produção de cerveja artesanal.....	53
Tabela 11. Composição de proteínas no decorrer da produção de cerveja artesanal.....	55
Tabela 12. Variação da turbidez da cerveja durante o processo de fabricação.....	57
Tabela 13. Teores alcoólicos para os diferentes fermentadores.....	59
Tabela 14. Comparação quantitativa dos tratamentos utilizados.....	60

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Descrição das rampas de temperatura.....	37
Gráfico 2. Variação do teor de compostos fenólicos em decorrência do tempo.....	54
Gráfico 3. Variação do teor de proteínas em decorrência do tempo.....	56
Gráfico 4. Variação da absorbância em decorrência do tempo.....	58

ANEXOS

Anexo 1. Comparação quantitativa de teor de proteínas por teor de compostos fenólicos.....	69
Anexo 2. Comparação quantitativa de turbidez por teor de compostos fenólicos.....	70
Anexo 3. Comparação quantitativa de turbidez por teor de proteínas.....	71

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 INGREDIENTES DA FABRICAÇÃO DE CERVEJA	18
2.1.1 ÁGUA	18
2.1.2 MALTE.....	18
2.1.2.1 CARBOIDRATOS	18
2.1.2.2 ENZIMAS.....	19
2.1.3 LÚPULO	20
2.1.4 CLARIFICANTE.....	22
2.1.4.1 GOMA CARRAGENA.....	22
2.1.4.3 OUTROS	23
2.1.5 LEVEDURA	23
2.2 MOAGEM	26
2.2.2 MOSTURAÇÃO	26
2.2.3 CLARIFICAÇÃO	27
2.2.5 WHIRLPOOL	28
2.2.6 RESFRIAMENTO	28
2.2.7 FERMENTAÇÃO	28
2.2.8 MATURAÇÃO.....	29
2.2.9 ENVASE	29
2.3 OXIDAÇÃO DE AMIDOS	29
3. OBJETIVOS.....	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30

4. MATERIAIS E METODOS.....	31
4.1 AMIDOS A SEREM OXIDADOS.....	31
4.2 HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	31
4.3 INSUMOS PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA.....	31
4.4 OXIDAÇÃO DOS AMIDOS.....	32
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS.....	33
4.5.1 TEOR DOS GRUPOS CARBOXÍLICOS.....	33
4.5.2 TEOR DE GRUPOS FOSFATOS.....	34
4.5.3 VISCOSIDADE INTRÍNSECA.....	34
4.6 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS.....	35
4.6.1 MOAGEM.....	37
4.6.2 MOSTURAÇÃO.....	37
4.6.3 CLARIFICAÇÃO/FILTRAGEM.....	38
4.6.4 FERVURA/COCÇÃO.....	38
4.6.5 SEPARAÇÃO DOS MOSTOS.....	39
4.6.6 WHIRLPOOL.....	39
4.6.7 RESFRIAMENTO.....	40
4.6.8 FERMENTAÇÃO.....	40
4.6.9 MATURAÇÃO.....	40
4.6.10 ENVASE.....	40
4.6.11 EFICIÊNCIA DO PROCESSO.....	41
4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA ARTESANAL.....	42
4.7.1 TESTE RÁPIDO DE SEDIMENTAÇÃO.....	42
4.7.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	42
4.7.3 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS PELO METODO BIURETO.....	43

4.7.4 ESPECTROFOTOMETRIA.....	43
4.7.5 DETERMINAÇÃO DE TEOR ALCOÓLICO	44
4.7.6 COMPARAÇÃO DOS FATORES	44
5. RESULTADOS E DISCUSSAO	45
5.1 OXIDAÇÃO DO AMIDO DE BATATA	45
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS	46
5.2.1 TEOR DOS GRUPOS CARBOXILAS.....	46
5.2.2 VISCOSIDADE INTRÍNSECA.....	47
5.2.3 TEOR DE GRUPAMENTOS FOSFATO	48
5.3 PRODUÇÃO DA CERVEJA.....	49
5.3.1 EFICIÊNCIA DA PRODUÇÃO	49
5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA	50
5.4.1 TESTE RÁPIDO	50
5.4.1.1 HOT-BREAK.....	50
5.4.1.2 COLD-BREAK	51
5.4.2 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	52
5.4.3 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS.....	55
5.4.4 ESPECTROFOTOMETRIA.....	57
5.4.5 TEOR ALCOÓLICO.....	58
5.4.6 COMPARAÇÃO DOS FATORES	59
6. CONCLUSÃO	62
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	63

1. INTRODUÇÃO

O amido é um polissacarídeo utilizado como reserva energética por vegetais que o sintetizam, tendo uma função análoga ao do glicogênio no organismo humano. No Brasil, verifica-se que há variação entre a definição geral de fécula e amido, sendo que, de acordo com a Legislação Brasileira o amido é a porção extraída da parte aérea das plantas e a fécula é a fração amilácea retirada de tubérculos, rizomas e raízes (LIMA, 2001).

O amido encontra-se amplamente distribuído em diversas espécies vegetais como um carboidrato de reserva, sendo abundante em grãos de cereais (40% a 90% do peso seco), leguminosas (30% a 50% do peso seco), tubérculos (65% a 85% do peso seco) e frutas imaturas ou verdes (40% a 70% do peso seco) (LAJOLO *et al.*, 2006).

De uma forma geral, os amidos nativos não são apropriados para a maioria das aplicações alimentícias por diferentes motivos como a fragilidade de grânulo gelatinizado quando submetido a condições drásticas de cisalhamento mecânico, altas temperaturas /longos períodos de cocção e pH baixo; que conduzem a queda da viscosidade com perda do corpo da pasta. Um outro problema dos géis elaborados com os amidos nativos é o problema da associação das macromoléculas, principalmente a amilose, que leva a liberação de água (sinérese), problema que é acelerado em especial pelas baixas temperaturas ou por ciclos de resfriamento/aquecimento. Outra limitação dos os amidos nativos é a não formação de géis quando entram em contato com água fria (TAGGART, 2004).

De acordo com a legislação brasileira, a cerveja é definida como uma bebida carbonatada obtida através da fermentação alcoólica de mosto proveniente, em sua maioria, de cereais maltados e água potável, por meio da ação de leveduras e que possua adição de lúpulo (BRASIL, 2009).

Abaixo segue uma representação gráfica da estrutura de um amido simples, na Figura 1.

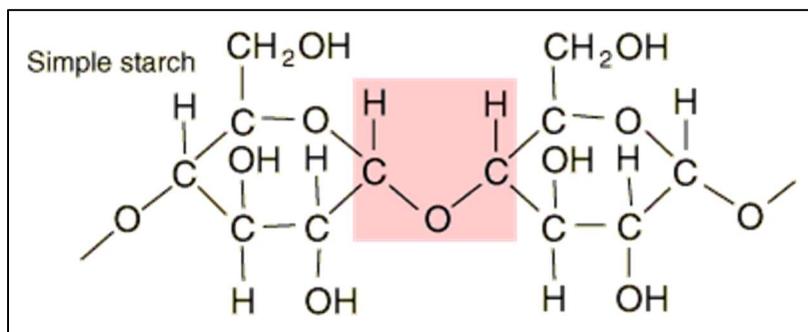


Figura 1. Representação de uma molécula de amido simples.

FONTE: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/organic/carb.html>

O malte fornece diversos atributos chave que definem a cerveja como conhecemos, incluindo cor, sabor, aroma, corpo e, eventualmente através da fermentação, álcool. Quando se formula uma lista de grãos para produção de cerveja, o cervejeiro deve levar em conta cada um desses fatores em consideração. A lista de grãos é amplamente variada; algumas podem utilizar apenas um único tipo de malte enquanto outras são complexas combinações e misturas de diversos tipos de malte. Destaca-se a importância de se explorar a diversidade crescente de maltes, como emprega-los na cervejaria e como outros profissionais utilizam diferentes tipos para a criação de cervejas distintas, balanceadas, complementadas de sabor e aroma (MALLETT, 2014).

As técnicas e ferramentas usadas para transformação do grão cru em material que fornece sabor, aroma, cor e nutrientes necessários para a produção de cerveja, tem evoluído com a civilização. A cerveja tem sido um proeminente e importante componente em muitas culturas (MALLETT, 2014).

Os lúpulos são vinhas trepadeiras que formam conglomerados de flores em forma de cone. Estas plantas são nativas de regiões temperadas da América do Norte, Europa e Ásia, sendo separas em utilização de plantas fêmeas (as únicas que produzem cones, interesse para produção cervejeira) e macho. Suas folhas são semelhantes as folhas de uva em formato, possuindo coloração levemente verde, são bastante finas e aromáticas. A base das brácteas estão as glândulas de lupulina, que possuem coloração amarelada

e contém os óleos essenciais e as resinas que são tão apreciadas na produção de cervejas (PALMER, 2006).

Cones de lúpulos contêm alfa ácidos, que não possuem por si características de amargor. Os alfa-ácidos podem ser transformados (isomerizados) em iso-alfa ácidos, que possuem características de amargor, quando fervidas (HIERONYMUS, 2012).

A *Saccharomyces cerevisiae*, levedura utilizada na produção de cervejas, utiliza-se de açúcares simples, como glucose e maltose, como substrato na produção de dióxido de carbono e álcool etílico. Em adição a produção de álcool etílico e dióxido de carbono, as leveduras podem produzir muitos outros compostos, incluindo ésteres, álcoois superiores (com cadeias superiores a dois carbonos), cetonas, vários compostos fenólicos, bem como ácidos graxos. Os ésteres são os compostos responsáveis por aromas frutados na cerveja; fenóis promovem o aparecimento de notas picantes e, quando em combinação com compostos clorados (clorofenóis), podem gerar aromas medicinais. Diacetil é um composto cetonado, podendo ser benéfico quando encontrado em pequenas doses, de forma a adicionar notas amanteigadas na cerveja – aspecto desejável para estilos ingleses, como as Scotch ales, Stouts, entre outras (PALMER, 2006).

Diferentes sistemas de fermentação criam resultados com grandes diferenças entre si. Tradicionalmente, cervejeiros utilizam tanques fermentadores com tal objetivo, assim possibilitando a “colheita” das leveduras utilizadas no processo de fermentação, afim da obtenção de resultados específicos. A crescente pressão parcial dos gases em solução – dentro do tanque fermentador – pode afetar a performance das leveduras cervejeiras, bem como o flavor do produto final. Os principais pontos de controle durante a fermentação de cervejas artesanais são a viabilidade do fermento empregado e sua fonte, a gravidade inicial e final do mosto, bem como seu pH, volume, temperatura e as notas produzidas diariamente (aromas e sabores da fermentação). É através de uma rigorosa atenção ao processo de fermentação que o mestre cervejeiro se torna apto a detectar problemas em seu estágio inicial e, possivelmente, salvar um lote de considerável perda financeira (WHITE; ZAINASHEFF, 2010).

Considerada uma bebida com sabor e aroma altamente complexos, para que sua qualidade seja assegurada, a cerveja necessita que haja um bom equilíbrio entre as concentrações dos seus compostos. Dentre os componentes de maior importância estão os ésteres, aldeídos, álcoois superiores e fenóis. A ocorrência de sabores e aromas indesejáveis afetam negativamente a qualidade da cerveja, os chamados *off-flavors*, sendo um grande problema nas indústrias cervejeiras (ARAUJO et al., 2003).

O mercado da cerveja é bastante promissor, movimentando uma imensa rede que envolve desde a pesquisa, o cultivo, o processamento e a comercialização de insumos e matérias-primas até a entrega do produto ao consumidor (CERVBRASIL, 2014).

Um aspecto desejado pelos consumidores é o consumo de uma cerveja límpida e brilhante. Os compostos responsáveis pela turbidez não-microbiológica, como complexos proteína-taninos são inicialmente retirados por um meio físico, após o final da fervura, chamado de turbilhonamento (*whirlpool*). Para aumentar a precipitação das proteínas, que coagulam a quente, normalmente é usado goma carragena, um polissacarídeo de origem marinha, que por possuir cargas negativas, se complexa com as proteínas aumentando a densidade do sólido e facilitando sua sedimentação. A atividade da carragena se prolonga nos estágios de fermentação e maturação. No entanto, a indústria cervejeira carece de alternativas de polímeros que sejam totalmente compatíveis com a matriz amilácea do malte, pelo exposto abre-se um caminho de modificação de amidos carregados negativamente que atuem de forma análoga a goma carragena.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 INGREDIENTES DA FABRICAÇÃO DE CERVEJA

2.1.1 ÁGUA

Talvez a água seja o ingrediente mais importante no processo de produção de cerveja, até porque a maior parte da composição da cerveja é constituída por água. Algumas águas são famosas na produção de cervejas, tais como a água dura de Burton, Midlands, a água de Rocky Mountain, a água mais mole de Pilsen. Cada uma dessas águas contribui para a produção de cervejas com sabor único. A composição de cada água tem uma forte influência sobre cada cerveja uma vez que os minerais presentes na mesma podem interagir com os amidos do malte, influenciando positiva ou negativamente na conversão do amido em açúcares, bem como levar a uma atenuação de sabores específicos, dependentes destes minerais. Uma vez que os açúcares já foram extraídos, a interferência da água no sabor final da cerveja diminui drasticamente. Os três aspectos que devem, mandatoriamente, serem avaliados são: pre-tratamentos da água para odores e sabores da água, adições de minerais para o favorecimento de flavors da cerveja, e os níveis minerais desejados para uma boa condição de fermentação (PALMER, 2006).

2.1.2 MALTE

2.1.2.1 CARBOIDRATOS

As plantas produzem carboidratos via fotossíntese, usando a água e dióxido de carbono atmosférico. As plantas usam os carboidratos com a função estrutural e também

na reserva energética. As propriedades das moléculas carboidratos dependem de como a base dos ingredientes estão quimicamente configurados. Moléculas de carboidratos consistem exclusivamente de carbono, hidrogênio e oxigênio e, geralmente, possuem uma proporção de hidrogênio-oxigênio de dois para um. Ambos amidos e sacarídeos (açúcares) estão neste grupo, o grupo dos carboidratos. A forma mais básica destes carboidratos são os monossacarídeos (constituídos por única molécula de açúcares). Os monossacarídeos tem a formula química $C_x(H_2O)_x$, onde “x” geralmente e maior do que três, mas pode variar entre dois e sete. Tipicamente, a proporção de carbono para oxigênio e de um para um. Monossacarídeos podem se ligar formando estruturas maiores e mais complexas, chamadas polissacarídeos. Estes compostos moleculares podem estar presentes em qualquer forma de amidos, celulose, hemicelulose e gomas (MALLETT, 2014). No malte base (malte pilsen 2-row), o amido está presente em teores de aproximadamente 75% a 80% do grão e, nos maltes especiais, se encontra nas proporções de 55% a 75% (PALMER, 2006).

2.1.2.2 ENZIMAS

Estruturalmente, as enzimas são moléculas proteicas intrinsecamente dobradas em três dimensões. Cada enzima tem um formato específico que a confere interação singular com outros compostos (referidos como “substratos”) e causam mudanças estruturais, resultando em novos “produtos”. As enzimas são a chave que fecha ou abre moléculas, de forma a facilitar que reações químicas ocorram; reações que são facilitadas por enzimas podem ocorrer de forma muito mais rápidas do que aquelas onde as enzimas estão ausentes. Enzimas são catalizadores e se mantem intactas até mesmo quando a reação é completa e os substratos convertidos em produtos (MALLETT, 2014). As principais enzimas presentes no malte são proteases, beta-amilase e alfa-amilase (PALMER, 2006).

2.1.3 LÚPULO

De acordo com Hieronymus (2012), os lúpulos pertencem ao gênero botânico *Humulus*, englobando três principais espécies: *Humulus lupulus*, *Homulus scandens* e *Humulus yunnanensis*. Apesar serem da mesma espécie, apenas o *Humulus lupulus* possui valor na produção de cerveja, porque é o único que produz cones resinosos. O gênero *Humulus* é pertencente à família *Cannabaceae*, que também inclui a *Cannabis*. Os lúpulos fornecem aspectos de suma importância na produção de cervejas, em especial cervejas artesanais. Dentre os aspectos mais importantes conferidos pelos lúpulos estão: amargor, aroma, flavor (combinação de aroma e sabor), sensação na boca, espuma, estabilidade do flavor, propriedades antimicrobianas, ajudando a inibir o crescimento de microrganismos que podem prejudicar o flavor e aparência da cerveja.

Abaixo segue a Figura 2. que representa a “Aroma Wheel” da cerveja, apresentando os aromas característicos possíveis em cervejas, decorrente das adições de lúpulos ou fatores externos, como possíveis contaminações microbiológicas, oxidação ou contaminações por excessos de metais ou outros agentes químicos.

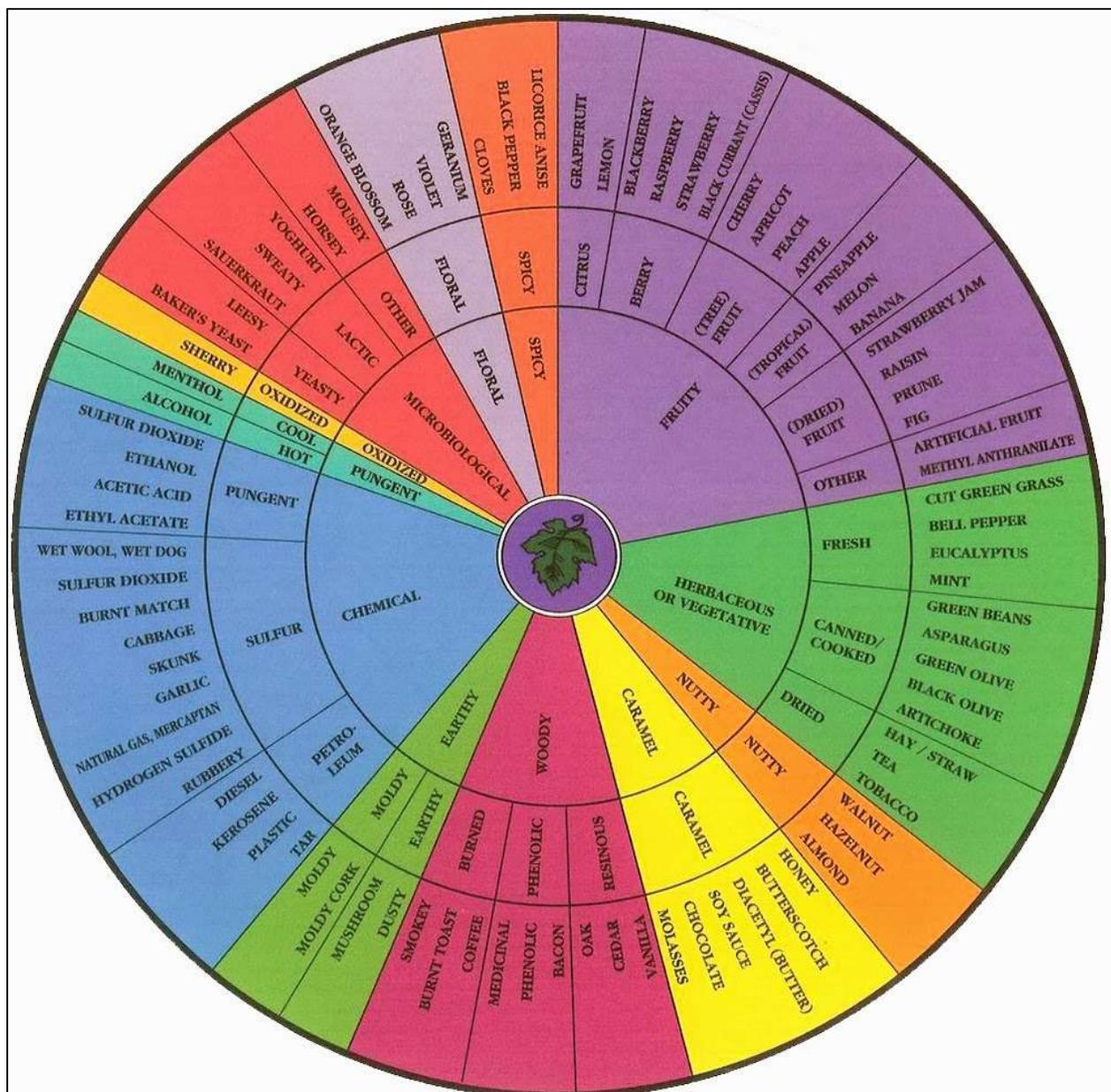


Figura 2. Aroma Wheel.

FONTE: HIERONYMUS (2012)

Geralmente quando se fala sobre lúpulos para produção de cerveja, o foco não está na planta em si, mas nos cones que ela produz. O cone é produzido a partir de uma inflorescência (aglomerado de pequenas flores) fêmea. As glândulas de lupulina se desenvolvem na base das brácteas, e a lupulina tem aparência amarelada, pegajosa e

aromática. As glândulas de lupulina contêm resinas de aspecto macio e outras mais rígidas, além de óleos de lúpulo e polifenóis. As resinas macias incluem alfa e beta ácidos, e ambos contribuem na composição do amargor da cerveja. Quando isomerizados, os alfa-ácidos, convertidos durante a fervura do mosto, são a fonte primária de amargor, enquanto os óleos de lúpulo contribuem fortemente para os aromas e flavor da cerveja; ainda que as reações químicas que envolvem o desenvolvimento de aromas não sejam totalmente conhecidas (HIERONYMUS, 2012).

2.1.4 CLARIFICANTE

Em um amplo espectro, a cerveja é avaliada em todos os sentidos: flavor, incluindo seu sabor e aromas; aparência, incluindo cor, claridade, carbonatação (e o resultado das sensações tácteis) e espuma; e a estabilidade, novamente cobrindo os aspectos de clarificação (ausência de opacidade causada por mecanismos físicos ou contaminação microbiana) e a estabilidade da espuma (BREWERS ASSOCIATION, 2014).

Segundo Leather (1998), os fatores de maior interesse na clarificação são: a dosagem de clarificante utilizada, o tempo de sua adição, a claridade do mosto utilizado, o pH do mosto, as variedades de malte utilizadas, a quantidade de proteínas de “cold-break”, o grau de modificação dos maltes, a gravidade do mosto, os níveis de polifenóis presentes no mosto, as concentrações de sal da água utilizada no mosto, a temperatura empregada no “mash”.

2.1.4.1 GOMA CARRAGENA

O componente ativo na maioria dos processos de clarificação atualmente utilizados é a k-carragena. As carragenas são proximamente relacionadas a família estrutural de polissacarídeos marinhos, baseados em galactose e monômeros sulfato de

galactose. As formas as quais as carragenas podem assumir são diferenciadas pelo grau de sulfatação e a presença de grupamentos 3,6-anidro. O mecanismo de clarificação do mosto é descrito pela direta interação eletrostática de moléculas negativamente carregadas de k-carragena com proteínas positivamente carregadas (WARD, 1998).

2.1.4.3 OUTROS

De acordo com Smith (2008), outros agentes clarificantes utilizados na produção de cerveja artesanal são:

- Gelatina – a gelatina incolor e sem sabor é utilizada como clarificante no processo de cervejas artesanais e, devido a facilidade de compra e seu baixo preço, apresenta-se como uma boa alternativa aos clarificantes comerciais. É utilizada na remoção tanto de proteínas quanto de polifenóis.
- Polyclar – o Polyclar é um aditivo que consiste em um pó do plástico PVPP (polyvinylpolypyrrolidone). O plástico é positivamente carregado e se apresenta de forma muito efetiva na remoção de polifenóis da cerveja já pronta.
- Irish-Moss – é um aditivo seco derivado de algas marinhas. É geralmente adicionado ao final da etapa de fervura, auxiliando na coagulação e precipitação de proteínas de “cold-break”.

2.1.5 LEVEDURA

A levedura para produção cervejeira (*Saccharomyces cerevisiae*) é um tipo de fungo. Este fungo se reproduz assexuadamente por divisão celular, sendo considerado um ser vivo atípico visto que este possui a capacidade de viver, crescer e se reproduzir tanto em condições de aerobiose quanto em condições de anaerobiose. A maioria dos microrganismos tem capacidade de se desenvolver em uma ou outra dessas situações.

Quando em condição de anaerobiose, chamamos este processo de fermentação (PALMER, 2006).

As leveduras metabolizam os açúcares fermentáveis, durante o processo de fermentação. De acordo com a perspectiva de produção cervejeira, os carboidratos podem ser largamente separados por uma simples questão: “este açúcar é fermentável ou não? ”. As leveduras, ou fermento cervejeiro, podem metabolizar apenas hexoses (açúcares com series de seis carbonos); eles não podem metabolizar pentoses (series de cinco carbonos), nem açúcares com três, quatro ou sete carbonos. As leveduras cervejeiras podem fermentar os monossacarídeos glicose, frutose e galactose; os dissacarídeos sacarose e maltose e, no caso das leveduras tipo Lager, o trissacarídeo maltotriose. Qualquer açúcar de cadeia maior (como a maltotetraose) é considerado uma dextrina (ou pelo nome formal, oligossacarídeo), sendo não fermentável. Ainda que haja *overlap*, a levedura preferencialmente consome a glicose ao invés da frutose. Para metabolizar sucrose, a levedura primeira a quebra em glicose e frutose, em um processo extracelular, auxiliado por suas enzimas. Na presença de glicose, o mecanismo de transporte no carregamento da maltose e da maltotriose para dentro da célula é suprimido, e a levedura tende a consumir os monossacarídeos mais acessíveis antes de desprender energia em moléculas maiores (MALLETT, 2014).

2.2 PROCESSO DE PRODUÇÃO DA CERVEJA ARTESANAL

De acordo com o BJCP (2008), as cervejas artesanais do estilo American Pale Ale possuem aroma de lúpulo de moderado a forte, sendo preferencialmente cítricos. Sua coloração deve variar entre um dourado pálido ao âmbar, possuindo um sabor de lúpulo de moderado a intenso. Seu corpo deve ser classificado entre leve e médio, com carbonatação variante entre moderada e alta. A impressão geral deve ser refrescante e lupulada.

O processo de produção dos mostos que serão bioquimicamente transformados em cerveja está descrito abaixo etapa por etapa primeiramente em um fluxograma e suas

respectivas etapas nos tópicos subsequentes. A metodologia utilizada na produção das cervejas artesanais é descrita por Palmer (2006). Foram empregadas algumas adaptações ao processo, de acordo com as necessidades encontradas. Fluxograma apresentado na Figura 3.

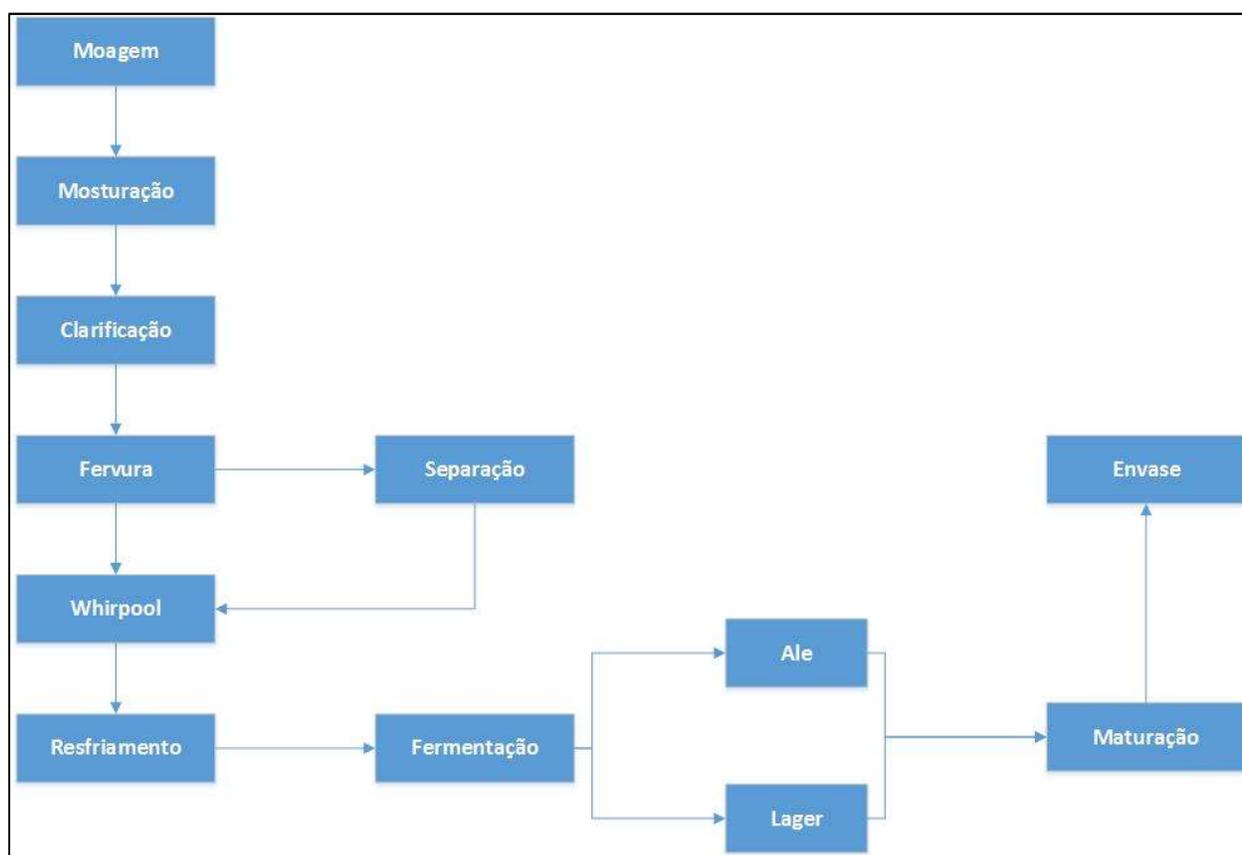


Figura 3. Fluxograma do processo de produção de cerveja, adaptado de PALMER (2006).

2.2.1 MOAGEM

A moagem consiste basicamente na separação da casca dos grãos do endosperma, fonte de amido desejada. Esta deve ser realizada de forma com que a casca do malte não seja destruída, apenas separada.

A Figura 4 abaixo representa esquematicamente o funcionamento de um moinho de rolos industrial.

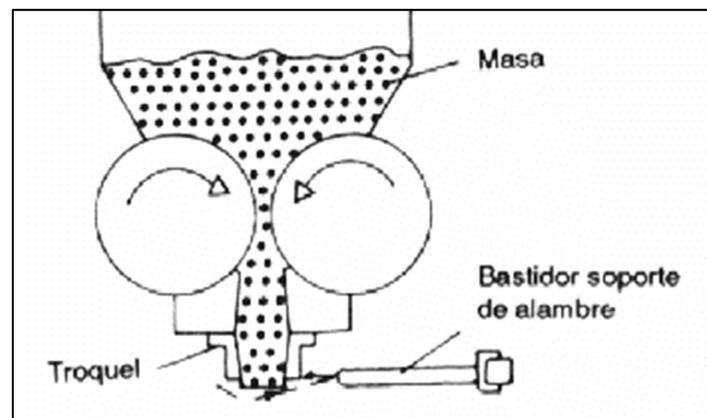


Figura 4. Moinho de rolos, por UFRGS.

FONTE: <http://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prcerea/matinal/basemoag.htm>

2.2.2 MOSTURAÇÃO

A etapa de mosturação tem como objetivo principal a conversão enzimática dos amidos contidos nos grãos de malte tanto em açúcares fermentáveis quanto em alguns não fermentáveis, responsáveis por corpo e sabor. Essa conversão de amido em açúcares acontece meio a ação das enzimas alfa e beta-amilase. Mantem-se o mosto agitado em determinadas faixas de temperatura, afim de se obter diferentes os açúcares. O tempo em que o mosto e aquecido para ativação das enzimas varia de acordo com a necessidade de características específicas da cerveja final.

As rampas de temperatura são variáveis de acordo com os aspectos desejados, variando, geralmente, de acordo com o estilo de cerveja produzido. Onde há um aumento do tempo de ativação da enzima β -amilase para cervejas mais “secas” (onde deseja-se maior conversão dos açúcares em álcool) ou então da enzima α -amilase para cervejas mais “encorpadas” (onde deseja-se mais açúcares residuais, que não serão fermentáveis).

2.2.3 CLARIFICAÇÃO/FILTRAGEM

A etapa de clarificação ocorre inicialmente com o assentamento da camada de grãos, seguida da recirculação do mosto na torta filtrante. O processo é repetido até que se obtenha um mosto límpido e translúcido.

O processo de clarificação e lavagem do malte termina assim que se alcance o °Brix desejado no mosto que vai para fervura, assim garantindo a padronização da quantidade de açúcar no mosto e, conseqüentemente, mantendo a identidade do produto final – como ABV (alcohol by volume, teor de álcool), dulçor, cor, corpo da cerveja.

2.2.4 FERVURA/COCÇÃO

Também chamada de etapa de fervura, a etapa de cocção do mosto tem como objetivo principal a esterilização do mosto e, como objetivo secundário, a fervura do mosto acaba por fornecer os componentes de amargor e aroma desejáveis a fabricação de uma boa cerveja e, estes, são provenientes dos diferentes lúpulos que empregados.

Os tempos de adição de lúpulos durante a fervura são, costumeiramente, registrados em relação ao tempo faltante para o termino da mesma. Tem-se a seguir a Tabela 2, com descrição dos tempos utilizados nessa pesquisa, incluindo as etapas subsequentes.

2.2.5 WHIRLPOOL

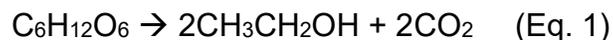
O processo de whirlpool consiste basicamente na agitação do mosto de forma tangencial ao recipiente onde este se encontra, de forma a se criar um vórtex central, promovendo o choque de moléculas de proteínas do trub e os agentes clarificantes (sequestrantes de proteínas) empregados.

2.2.6 RESFRIAMENTO

Durante esta etapa, troca-se de calor e resfria-se a temperatura do mosto recém fervido. O processo de resfriamento do mosto deve ocorrer o mais rápido possível, tomando-se os necessários cuidados para se evitar contaminação do produto. Resfria-se o mosto até a temperatura empregada na fermentação.

2.2.7 FERMENTAÇÃO

A partir da inoculação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, a levedura passa a metabolizar os açúcares fermentáveis, produzindo CO₂ e etanol. Este processo transforma o mosto, basicamente composto por água e açúcares, em cerveja. A conversão primária dos produtos gerados pela fermentação estão descritos na Equação 1:



Deve-se medir a densidade do mosto diariamente para determinar quando a fermentação foi completada. Uma vez que a densidade da cerveja atinge um valor estável, tem-se o indicativo da redução do metabolismo das leveduras.

2.2.8 MATURAÇÃO

Após o consumo dos açúcares disponíveis no mosto, a levedura tende a reduzir seu metabolismo para um estado de latência. Para estimular este processo e otimizar a decantação das leveduras, a temperatura deve ser reduzida para valores próximos a 0°C. Em média, a maturação de cervejas do tipo Ale se dá no período de 14 dias.

2.2.9 ENVASE

O envase da cerveja acontece ao se estimular uma nova fermentação, dessa vez dentro da garrafa, forçando a carbonatação da cerveja. O processo de refermentação da cerveja, com o intuito de carbonatá-la chamasse "*Priming*".

2.3 OXIDAÇÃO DE AMIDOS

Durante o processo de oxidação do amido, os grupos carboxila e carbonila podem ser introduzidos ao oxidar os grupos hidroxila (reação que depende do oxidante). Como resultado, ocorre um rompimento das ligações D-glucana α -1,4.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o comportamento do amido de batata oxidado no processo de clarificação de cervejas produzidas artesanalmente, bem como suas características físico-químicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificar amostras de amido de batata através de oxidação por adição de hipoclorito de sódio;
- Avaliar alterações físico-químicas do amido de batata, tais como viscosidade intrínseca, grau de fosfatação e teor de grupos carboxilas;
- Produzir cerveja artesanal com características técnicas compatíveis com as cervejas artesanais comerciais.
- Comparar o efeito dos amidos oxidados como agente clarificante, em relação aos clarificantes de uso comercial (goma carragena).

4. MATERIAIS E METODOS

4.1 AMIDOS A SEREM OXIDADOS

Foi utilizado amido de batata de origem comercial, da marca Yoki. Foram utilizados 4 pacotes de 200 gramas, de mesmo lote (S8LH5DF), proveniente do município de Jaboatão dos Guararapes (PE).

4.2 HIPOCLORITO DE SÓDIO

Para a oxidação do amido de batata foi utilizado hipoclorito de sódio comercial, da marca Qboa, contendo aproximadamente 2,5% (m/m) de cloro ativo.

4.3 INSUMOS PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA

Os insumos para produção de cerveja foram obtidos na cervejaria Tauá Ltda., na cidade de Campo Mourão/PR. Foram utilizados malte Pilsen, CaraPils e CaraAmber. Os lúpulos utilizados na fabricação da cerveja ale foram German Magnum e German Perle.

A composição de maltes e lúpulos utilizada nesta pesquisa foi a seguinte:

Tabela 1. Insumos utilizados na formulação da cerveja APA.

Insumo	Quantidade (g)	Marca
Malte Pilsen	3100	Agraria Maltes
Malte CaraPils	750	Weyermann
Malte CaraAmber	500	Weyermann
Lúpulo German Magnum	20	LNF
Lúpulo German Perle	24	LNF

Clarificante a base de Goma Carragena: A carragena, da marca WHIRFLOC®, foi comprada na loja Lamas Brewshop, no município de Campinas (SP).

4.4 OXIDAÇÃO DOS AMIDOS

As amostras de amido de batata foram oxidadas a partir da metodologia proposta por Sangseethong et al. (2009), onde se obtém uma pasta de amido e solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo, baseado na massa de amido), contendo 40% de sólidos e pH ajustado para 8.5. A temperatura da solução foi mantida estável em 30°C durante esse processo, e o pH mantido em 10 com adição de solução de NaOH. Utilizou-se os tempos de 30 e 120 minutos para as amostras de amido. A reação em cada uma das amostras foi cessada através da adição de solução de bissulfito de sódio e o pH ajustado com adição de HCl para a faixa de 6.5 a 7. As amostras foram lavadas com 2L de água destilada e secadas em estufa de convecção forçada 50°C, pelo período 36 horas.

Modificação a 30 minutos (OX1): foram utilizados aproximadamente 250 gramas da amostra de amido de batata em agitação constante com a solução de hipoclorito de sódio 2,5% m/m.

Modificação a 120 minutos (OX2): foram utilizados aproximadamente 250 gramas da amostra de amido de batata agitados continuamente, seguido pelos processos subsequentes, em solução de hipoclorito de sódio 2,5% m/m.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS

4.5.1 TEOR DOS GRUPOS CARBOXÍLICOS

A metodologia utilizada na quantificação dos grupamentos carboxílicos e descrita por Smith (1967). Foram pesados inicialmente 30 gramas de amido oxidado, dispersos em 100 mL de solução de HCl 0,1 mol.L⁻¹. A dispersão de amido foi agitada por 30 minutos e filtrada a vácuo, seguido por lavagem com água destilada até a total remoção do íon cloreto. A amostra de amido foi seca em estufa com circulação de ar a 45°C por 8 horas e moída manualmente até a granulometria fina (250 µm). Pesou-se 3,00 gramas de amido lavado, os quais foram dispersos em 100mL de água destilada. A solução foi completamente gelatinizada por aquecimento em banho de água fervente com agitação continua por 15 minutos. Resfriou-se a dispersão de amido gelatinizado até temperatura ambiente, seguida por titulação com solução padrão de NaOH 0,1 M até pH 8,3. Como branco utilizou-se uma amostra de 2 gramas de amido nativo, gelatinizada e titulada de maneira análoga a do amido oxidado. A equação 2 foi utilizada para quantificar o teor de grupamentos carboxila:

$$\% COOH = \frac{(V1-V2)*[NaOH]*0,045*100}{m} \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

%COOH = percentual de carboxilas

V1 = volume gasto de NaOH na titulação da amostra (mL).

V2 = volume gasto de NaOH na titulação do branco (mL).

[NaOH] = concentração mol.L⁻¹ de NaOH

m = massa da amostra em base seca (g).

4.5.2 TEOR DE GRUPOS FOSFATOS

A metodologia empregada na determinação do teor de grupos fosfatos foi descrita por Maneesriraj, Phetkoa e Narkrugs (1998). O amido (18 g) foi submetido a extração de soxhlet com etanol 96% pelo período de 8 horas e, na sequência, o amido fosfatado e desengordurado foi recuperado por filtração a vácuo e lavado com 200 mL de água destilada. Todo o amido foi disperso em 100 mL de água destilada e o pH ajustado para 2,0 com HCl 5 mol.L⁻¹. O amido foi recuperado por filtração a vácuo, lavado com aproximadamente 1 litro de água destilada em seco (45°C por 12 h) em estufa com circulação forçada de ar. Amostra de 3 g (bs.) foi depositada em béquer de 100mL, e dispersada em 20mL de água destilada. Essa dispersão de amido foi titulada com solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹, até pH 5 (para primeiro dado, Va) e depois até pH 9 (Vb). A seguinte equação descreve o teor dos grupamentos fosfatos presentes no amido.

$$\% GP = \frac{(Vb - Va) \times [NaOH] \times 0,31}{m} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde:

% GP = percentual de grupamentos fosfato.

Va = volume (mL) de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ gasto para atingir pH 5.

Vb = volume (mL) de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ gasto para atingir pH 9.

[NaOH] = concentração em mol.L⁻¹ de HCl.

m = massa (g) da amostra em base seca.

4.5.3 VISCOSIDADE INTRÍNSECA

A determinação da viscosidade intrínseca do solvente NaOH 1,0 mol.L⁻¹ e das amostras dissolvidas (0,1 g.100 mL⁻¹) 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).

$$\eta_{in} = \left(\frac{1}{c}\right)^2 \sqrt{2 (\eta_{sp} - \eta_{nr})} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde

η_{in} = viscosidade intrínseca (dL.g⁻¹).

c = concentração da solução (g.dL⁻¹).

η_{sp} = viscosidade específica (dL.g⁻¹).

η_{nr} = corresponde a viscosidade relativa (dL.g⁻¹).

4.6 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS

A metodologia utilizada na produção da cerveja tipo Pale Ale foi baseada na descrição do processo de produção de cervejas artesanais, por Palmer (2006). Cada uma das etapas do processo de produção das cervejas artesanais está descrita nos tópicos a seguir.

A seguir temos a Figura 5. que descreve a formulação da cerveja artesanal estilo American Pale Ale.

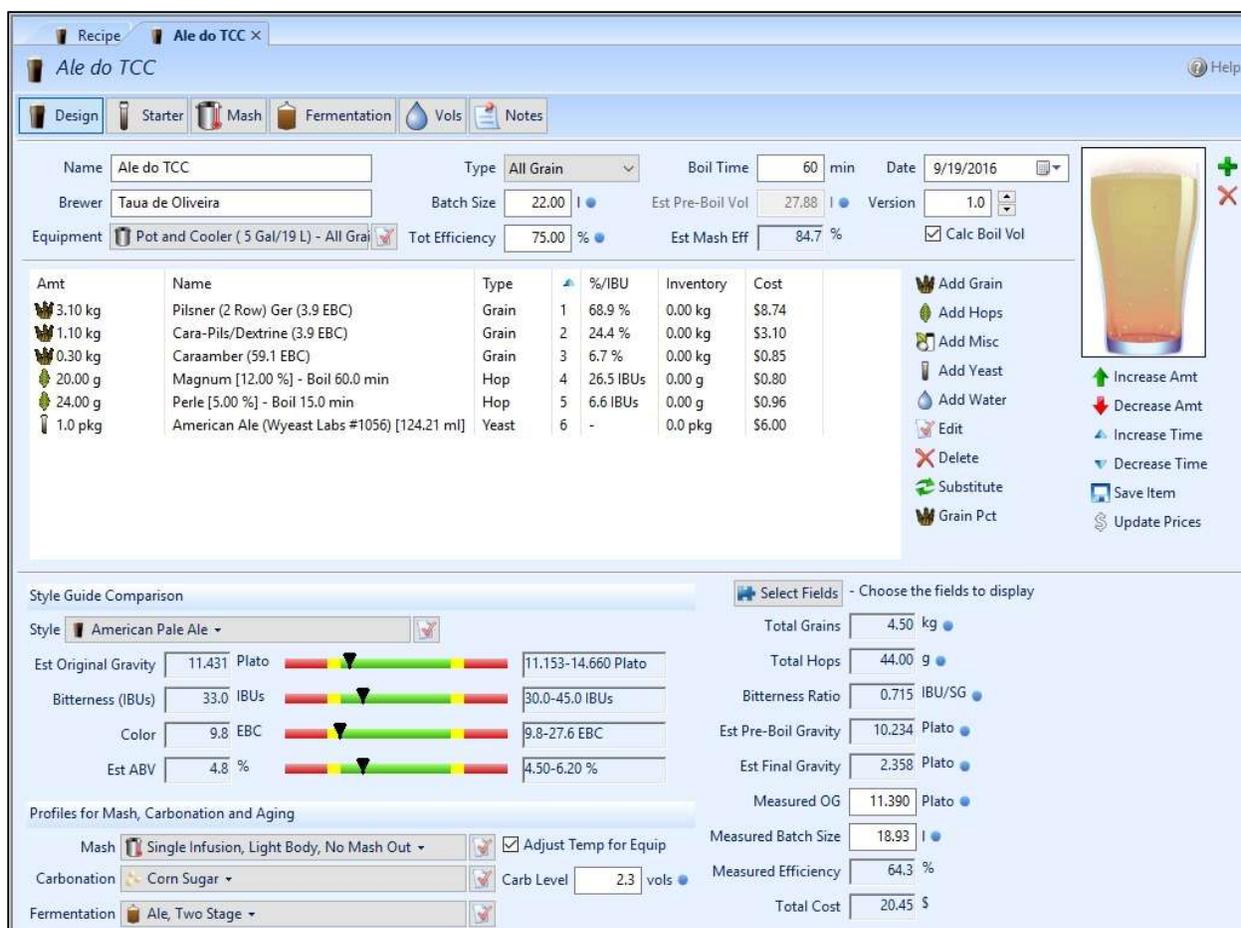


Figura 5. Formulação da cerveja American Pale Ale, utilizando software BeerSmith 2.

Utilizou-se o programa BeerSmith 2 para a criação da formulação da cerveja produzida para este trabalho.

As rampas de temperatura utilizadas na mosturação, propostas por Palmer (2006) estão descritas no Gráfico 1:

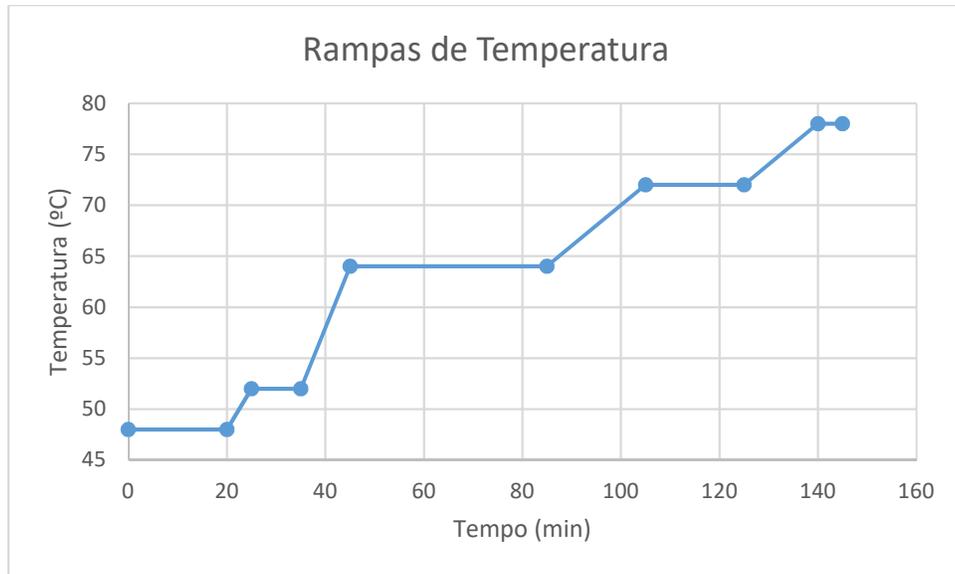


Gráfico 1. Descrição das rampas de temperatura.

Embora a descrição teórica das rampas de temperaturas utilizadas na mosturação não os inclua, o Gráfico 1 inclui os tempos de transição, onde há elevação da temperatura entre uma e outra rampa.

4.6.1 MOAGEM

Realizada na espessura de 0,75 mm, afim de evitar entupimento da placa filtrante na tina de fervura.

4.6.2 MOSTURAÇÃO

De acordo com as necessidades de corpo e teor alcoólico da cerveja estilo APA, foram utilizadas as rampas de temperatura descritas na tabela 2:

Tabela 2. Descrição das rampas de temperaturas durante o processo.

Temperatura (C)	Descrição	Enzima Ativada	Tempo (min)	Açúcares Obtidos
48	Descida do malte	-	20	-
52	Parada proteica	Protease	10	-
64	Conversão de amidos	β -amilase	40	Maltose/Glicose
72	Conversão de amidos	α -amilase	20	Dextrinas/Glicose
78	Inativação enzimática	-	5	-

Fonte: PALMER (2006)

4.6.3 CLARIFICAÇÃO/FILTRAGEM

O equipamento requer a recirculação de aproximadamente 10 litros de mosto sobre a camada de grãos, até que se obtenha mosto translucido.

4.6.4 FERVURA/COCÇÃO

Etapa de composição de aromas e amargor, condizentes com a demanda aromática (levemente cítrica) e de amargor descritos pelo BJCP, foram utilizadas as seguintes adições de lúpulos, conforme descrito na tabela 3.

Tabela 3. Descrição das adições de lúpulos durante a fervura.

Tempo (min)	Componente Adicionado	Efeito
75'	-	Início da fervura
60'	Lúpulo Magnum	Composição de amargor
25'	Lúpulo Perle	Composição de aromas
0'	Clarificante	Sequestro de proteínas positivamente carregadas
0'	Whirlpool	Decantação das proteínas do trub

4.6.5 SEPARAÇÃO DOS MOSTOS

Esta etapa é uma das adaptações ao processo que foram empregadas na produção das cervejas, de forma com que houvesse a maior homogeneidade possível entre as amostras. O intuito desta etapa consiste na garantia de mesmas condições para o teste dos diferentes clarificantes empregados nesta pesquisa. Separou-se o mosto em 5 fermentadores distintos.

4.6.6 WHIRLPOOL

Esta é a etapa de maior importância para este trabalho. Isto ocorre uma vez que é na etapa de Whirlpool em que se adiciona o agente precipitante das proteínas do mosto.

Para esta pesquisa, foram utilizadas as seguintes amostras:

- Controle (BRANCO) – sem adição de qualquer agente precipitante.
- Goma Carragena (GC) – no peso recomendado pelo fabricante 1g.L⁻¹.
- Amido de batata nativo (NATIVO).
- Amido oxidado por 30 minutos (OX1) – proporção de 0.1g.L⁻¹.

- Amido oxidado por 120 minutos (OX2) – proporção de 0.1g.L⁻¹.

4.6.7 RESFRIAMENTO

Utilizou-se um “*chiller*” (trocador de calor em forma espiralada) de imersão, de alumínio e 10 metros de comprimento, até que obtivesse a temperatura de 20 °C.

4.6.8 FERMENTAÇÃO

Inoculou-se a levedura *Saccaromyces cerevisiae*, específica para produção de cervejas do tipo American Pale Ale. O tempo de fermentação empregado no processo foi de 7 dias.

4.6.9 MATURAÇÃO

Utilizou-se a temperatura de 1±2 °C para promover maior diminuição do metabolismo das leveduras. A maturação da cerveja artesanal do tipo American Pale Ale foi estendida para o período de 21 dias.

4.6.10 ENVASE

Utilizou-se a concentração de 6.5 g.L⁻¹ de sacarose como substrato para as leveduras e conseqüente carbonatação pela produção de CO₂.

4.6.11 EFICIÊNCIA DO PROCESSO

Para a determinação da eficiência obtida na conversão dos amidos em açúcares (tanto fermentáveis quanto não fermentáveis), bem como sua extração, utilizou-se as seguintes equações, propostas por De Clerck (1958):

$$Rendimento = \frac{Mac}{Mmalte+Madjunto} * 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

Onde:

Mac = massa de açúcar do mosto em gramas;

Mmalte = massa de malte, em gramas;

Madjunto = massa de adjuntos, em gramas.

A massa de açúcares presente no mosto foi definida a partir da densidade e volume obtidos durante a mostura.

$$Mac = d * V * \text{°Brix} \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde:

d = densidade do mosto, em g.mL⁻¹.

V = volume final;

° Brix = medida de sólidos em suspensão.

4.7 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA ARTESANAL

4.7.1 TESTE RÁPIDO DE SEDIMENTAÇÃO

Logo após o término do whirlpool, realizou-se o teste rápido, metodologia proposta por Ward e Leather (1995). Esta análise se dá pela separação de uma cota de 250 mL dos mostos adicionados dos respectivos agentes clarificantes, em proveta com capacidade de 250 mL. As amostras foram deixadas em repouso pelo período de 30 minutos, afim da observação da decantação das proteínas caracterizadas pelo “*hot-break*” (ou quebra a quente). Uma segunda bateria de mosto claro (50 mL) foi retirada da parte superior das provetas de 250 mL e mantidas refrigeradas (5 -7°C) pelo período de 12 horas, afim da observação do comportamento de decantação das proteínas do “*cold-break*” (ou quebra a frio).

4.7.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação do índice de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com a metodologia espectrofotométrica descrita por Folin-Ciocalteu, a partir da metodologia de Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. As análises de compostos fenólicos foram realizadas em triplicata e, para realização das mesmas, pipetou-se 100 µL de cada amostra de mosto/cerveja, 3000 µL de água destilada e 250 µL da solução Folin-Ciocalteu. As amostras foram mantidas em repouso durante aproximadamente 5 minutos e, posteriormente ao descanso, houve adição de 2000 µL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 7,5%. Realizou-se novo período de descanso, para que as reações pudessem ocorrer, pelo período de uma hora, ao abrigo da luz, a 37°C. Foi medida a absorbância das amostras no comprimento de onda de 765 nm, utilizando-se espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited), previamente calibrado com o branco. A determinação dos teores de compostos fenólicos

totais foi realizada através de interpolação entre a absorbância medida das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico ($y = 0,0017x - 0,0004$; $R^2 = 1$) e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg AG.L⁻¹).

4.7.3 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS PELO METODO BIURETO

Utilizou-se a metodologia descrita por Gornall, Bardawill E David (1949) na quantificação do teor de proteínas pelo método de biureto, nas amostras de mosto/cerveja. Para tal, pipetou-se 500 µL de cada amostra, adicionando-se 2500 µL de reagente de biureto. As amostras foram incubadas durante o período de 30 minutos, a 37 °C. Na sequência do método, a absorbância foi lida no espectro de 540 nm, em espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited) previamente calibrado com solução de branco (reagente de biureto). Interpolou-se os valores de proteínas obtidos no método através da absorbância das amostras versus curva de calibração construída com padrão de albumina de soro bovino (BSA) ($y = 0,0894x + 0,0175$; $R^2 = 0,9972$) e expressos em miligramas de equivalente de BSA por litro (mg BSA.L⁻¹). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.7.4 TURBIDEZ

Utilizou-se a metodologia descrita por Dale, Tran E Lyddiatt (1995) na realização da análise espectrofotométrica. Alíquotas da região superficial de cada um dos mostos e subsequentemente das cervejas, afim de se determinar a turbidez, através da medição da absorbância no comprimento de onda de 600 nm. Foi utilizado um espectrofotômetro (modelo UV/VIS T-80, PG Instruments Limited) e utilizou-se água destilada como amostra de branco (amostra controle). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.7.5 DETERMINAÇÃO DE TEOR ALCOÓLICO

Utilizou-se a metodologia descrita por Plata-Oviedo (2009) na determinação do teor alcoólico das cervejas artesanais, a partir do método de crioscopia. Foram transferidos 20 mL da cerveja previamente descarbonatada, adicionou-se 2 mL de solução de $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaOH e destilou-se as amostras até o volume de 40 mL, através do fenômeno de arraste de vapor. O líquido destilado foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL e o volume restante completo com adição de água destilada. Desta forma, obteve-se uma diluição da amostra com fator igual a cinco. O ponto de congelamento das amostras destiladas e diluídas foi medido através de um crioscópio (modelo MC 5400). Foi determinado o teor alcoólico de cada uma das cervejas através da comparação dos valores obtidos com a curva de calibração do teor de etanol (v/v%) contra a diminuição do ponto de congelamento. A curva de calibração foi elaborada a partir de soluções com teores de etanol de 0,8 a 2,8% v/v ($y = [(2,944467 \times \Delta t \text{ } ^\circ\text{H}(\text{diminuição do ponto de congelamento})) + 0,021435] \times \text{fator de diluição}$ $r = 0,9989$; $P < 0,001$) e expressos em %Etanol (v/v). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.7.6 COMPARAÇÃO DOS FATORES

No intuito da verificação de quais tratamentos tem maior influência na variação da absorvância, sequestro de proteínas e compostos fenólicos, realizou-se uma análise dos componentes principais. Foram normalizados por autoescalamento, divididos pelo desvio padrão e plotados os Anexos 1, 2 e 3, comparando quantitativamente as variáveis Teor de Compostos Fenólicos, Teor de Proteínas e Turbidez. Utilizou-se o software MATLAB 2008R.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos experimentos citados anteriormente estão expressos nos seguintes sub tópicos. Os resultados das metodologias de quantificação de carboxilas e fosfatos, viscosidade intrínseca, determinação de proteínas, fenólicos e turbidez, teor alcoólico foram determinados em triplicata.

5.1 OXIDAÇÃO DO AMIDO DE BATATA

Os resultados da eficiência do processo de modificação do amido de batata estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Eficiência do processo de oxidação dos amidos.

Amido	Massa Inicial (g)	Massa Final (g)	Eficiência %
OX1	253,333	233,501	92,17
OX2	252,451	230,683	91,38

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos.

O rendimento do processo de oxidação das amostras de amido de batata foi satisfatório e as perdas obtidas aproximaram-se das perdas descritas pelos autores da metodologia utilizada (SANGSEETHONG; LERTPHANICH; SRIROTH, 2009).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS

5.2.1 TEOR DOS GRUPOS CARBOXILAS

Os amidos oxidados e nativo foram submetidos a metodologia de quantificação dos grupos carboxilas, descrita por Smith (1967).

Os resultados obtidos na medição do teor de grupamentos carboxilas apresentaram um aumento dos valores de acordo com um maior tempo de oxidação dos amidos de batata, em relação a amostra controle – amido de batata nativo. Os resultados da determinação de teores de grupos carboxila encontram-se expressos na Tabela 5.

Tabela 5. Teor de grupos carboxila presentes e adquiridos.

Amido	% COOH	% COOH adquirido
NATIVO	0,1878 ^a	-
OX1	0,7813 ^b	0,5934±0,0277 ^b
OX2	0,9420 ^c	0,7542±0,0456 ^c

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo.

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

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

Estudos realizados por Fonseca et al. (2014) apontam a relação direta do teor de grupamentos carboxila com o grau de oxidação do amido de batata. Esta variação no teor dos grupamentos carboxila ocorre tanto relativo ao tempo de exposição do amido de batata aos compostos clorados, bem como a concentração de cloro ativo na solução utilizada para modificação desses amidos. A presença de grupamentos Carbonilas e Carboxilas em amidos oxidados se dá ao processo de oxidação dos grupamentos Hidroxilas nas moléculas de amido, primeiro em grupos carbonilas e depois em grupos carboxilas. Analogamente aos amidos de batata, esse aumento nos grupamentos

carboxilas também foram previamente observados em amidos provenientes de milho, banana, arroz e também de feijão.

De acordo com o estudo realizado por Wei (2015), o conteúdo de grupamentos carbonilas e carboxilas em amidos oxidados tendem a sofrer um aumento diretamente proporcional ao grau de oxidação dos mesmos. Além dos graus de carbonilas e carboxilas, outros grupamentos podem sofrer alteração após um processo de oxidação dos amidos com hipoclorito de sódio, tais como grupamentos fosfatos.

5.2.2 VISCOSIDADE INTRÍNSECA

A aplicação da metodologia de determinação da viscosidade intrínseca das amostras de amido, nativo e com diferentes graus de oxidação, apresentaram variação de acordo com os graus de oxidação empregados. Enquanto a amostra de amido nativo apresentou maiores valores de viscosidade intrínseca, esta decresceu conforme o maior tempo de oxidação do amido de batata com hipoclorito de sódio. Os resultados obtidos na aplicação da metodologia de medida da viscosidade intrínseca estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Resultados da análise de viscosidade intrínseca.

Amido	Salomon-Ciuta (1962) (dL.g⁻¹)
NATIVO	2,9107±0,0369 ^a
OX1	0,5151±0,0306 ^b
OX2	0,3849±0,0057 ^c

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo.

*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).

De acordo com Boruch (1985), um dos efeitos decorrentes do processo de oxidação dos amidos de batata é a degradação hidrolítica das moléculas desse amido,

isso acaba representado numericamente pelo decréscimo e redução nos valores medidos de viscosidade do gel de amido oxidado. Durante o processo de oxidação do amido de batata com hipoclorito de sódio, o formato das moléculas e seu sistema de configuração espacial das moléculas de amido são alterados; isto se comprova pelas mudanças de cor de seus complexos na presença de iodo, a maior resistência a ação de enzimas amilolíticas e também uma maior capacidade para formação de géis flexíveis sob a forma de filmes.

A extensão despolimerizada do amido depende do conteúdo de catalizador e oxidante, tempo de reação e a temperatura de processo (ZHANG et al., 2009). Quando os amidos são oxidados, não apenas os grupamentos hidroxilas são oxidados para grupos carbonilas e carboxilas, mas também cadeias de carboidratos são clivadas, fazendo com que haja um decréscimo considerável das taxas de viscosidade de uma solução de amido relativo ao tempo de exposição ao agente oxidante (ZHANG et al., 2011)

5.2.3 TEOR DE GRUPAMENTOS FOSFATO

A metodologia proposta por Maneesriraj, Phetkoa e Narkrugsa (1998), para a determinação da quantificação dos grupamentos fosfato, obteve-se os seguintes resultados para os amidos nativos, que são passíveis de comparação com outros estudos, presentes na Tabela 7:

Tabela 7. Teor de grupamentos fosfato.

Amido	% Grupos Fosfatos
NATIVO	0,0061±0,0005 ^a
OX1	0,0221±0,0001 ^b
OX2	0,0323±0,0003 ^c

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo.

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

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

De acordo com Singh (2016), o fósforo é um dos poucos constituintes dos amidos que não é carboidrato. O conteúdo fosforoso em amidos pode variar de 0.003% a 0.09%, e amidos de batata, de uma forma geral, apresentam maior conteúdo de grupamentos fosfatos (LIM et al., 1994). O fósforo costuma ser encontrado na forma de monoésteres fosfatados e fosfolípidios, em muitas variedades de amidos. Os grupamentos fosfato, esterificados a fração de amilopectina no amido de batata, contribuem para a alta capacidade de retenção de líquidos, viscosidade, transparência e estabilidade no congelamento/descongelamento (VAMADEVAN AND BERTOF, 2015). Já os fosfolípidios presentes têm a tendência a formar cadeias de amilopectina complexas, a partir de ligações com a amilose.

Os resultados obtidos na determinação do teor de grupamentos fosfato apontam um aumento dos mesmos de forma diretamente proporcional ao tempo de oxidação dos amidos de batata com hipoclorito de sódio. Esse aumento se deve ao consumo de hidróxido de sódio pelos grupamentos carboxila.

5.3 PRODUÇÃO DA CERVEJA

5.3.1 EFICIÊNCIA DA PRODUÇÃO

A eficiência do processo de produção da cerveja artesanal do tipo American Pale Ale foi definida a partir da equação proposta por De Clerck (1958), utilizando-se do método alemão de eficiência da extração de açúcares. Foram obtidos os seguintes resultados.

$$Mac = 1.045 \frac{kg}{L} * 26 L * 0,112 \text{ °Brix}$$

Onde:

$$Mac = 3,04304 kg$$

A partir da medida dos açúcares presentes no mosto final, foi possível a determinação da eficiência:

$$\text{Rendimento} = \frac{3,04304 \text{ kg}}{4,5 \text{ kg} + 0 \text{ kg}} * 100$$

$$\text{Rendimento} = 67,62\%$$

5.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA CERVEJA

5.4.1 TESTE RÁPIDO

Os resultados obtidos nas análises de teste rápido foram divididos de acordo com as leituras de quebra das proteínas a quente e a frio, respectivamente.

5.4.1.1 *HOT-BREAK*

As análises de quebra das proteínas a quente, ou “*Hot-Break*”, apresentaram resultados inconclusivos, onde verificou-se que os amidos modificados, independente dos graus de oxidação, apresentaram a mesma eficiência que a goma carragena. A discrepância dos resultados ocorreu na comparação dos amidos modificados e goma carragena quando comparados ao amido nativo e a amostra controle (sem clarificante).

Os resultados obtidos após 30 minutos, para avaliação da decantação de proteínas com o mosto quente, do teste rápido estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8. Volume clarificado durante o Hot-Break.

Tipo de clarificante	Volume clarificado (mL)
Amido Nativo	232±1 ^b
OX1	236±1 ^a
OX2	236±1 ^a
GC	236±1 ^a
BRANCO	231±1 ^b

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante.

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

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

De acordo com a fabricante Heineken (2015), o trub quente, também chamado de “*hot-break*”, é composto especialmente por complexos proteína-taninos (tanino=polifenóis). O processo de separação dos complexos de proteínas do trub em cervejarias normalmente se dá através dos fenômenos de sedimentação ou filtração, sendo a sedimentação a mais comum. Esta pode ocorrer através da gravidade natural, gravidade induzida (whirlpool), ou por gravitação mecanicamente gerada (centrifugação). A clarificação da cerveja pela sedimentação é dependente da densidade do mosto e do trub, onde as partículas do trub apresentam maior densidade (aproximadamente 2.25 g.cm⁻³) quando comparadas ao mosto (aproximadamente 1.04 g.cm⁻³).

5.4.1.2 COLD-BREAK

Os resultados obtidos, a partir da utilização da metodologia de determinação da quebra das proteínas do mosto a frio “*Cold-Break*”, apontam a goma carragena como a mais eficiente dentre os materiais testados como clarificantes de cerveja artesanal.

Os resultados obtidos após a refrigeração das amostras do teste rápido, pelo período de 12 horas, para avaliação da decantação das proteínas do *cold-break*, estão contidos na Tabela 9.

Tabela 9. Volume clarificado durante o *Cold-Break*.

Tipo de Clarificante	Volume clarificado (mL)
Amido Nativo	45±1 ^a
OX1	45±1 ^a
OX2	45±1 ^a
GC	47±1 ^a
BRANCO	42±1 ^b

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante.

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

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

Os compostos precipitados durante o resfriamento do mosto cervejeiro são similares aos decantados durante o “*hot-break*”, e são chamados de “*cold-break*”. Durante este processo, a formação da massa compactada ao fundo do tubo de ensaio possui valores de proteínas, embora seja superior na quantificação de polifenóis e carboidratos (HEINEKEN, 2015). O trub frio também pode ser removido com uma etapa adicional de trasfega do mosto, ainda que uma pequena quantidade do mesmo seja desejável para o processo de fermentação primária. O trub possui certo valor nutricional e é necessário para o crescimento e desenvolvimento das células de levedura (ANHEUSER-BUSCH, 2016).

5.4.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

De acordo com os resultados obtidos pela variação de compostos fenólicos em decorrência do tempo, em especial de maturação, os resultados foram expressos na Tabela 10.

Tabela 10. Composição de compostos fenólicos no decorrer da produção de cerveja artesanal.

Amostra	mg (AG).L ⁻¹					
	HOT BREAK	COLD BREAK	FERMENTAÇÃO	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
NATIVO	513,57±6,34 ^{aA}	438,67±3,40 ^{aC}	454,35±1,76 ^{aB}	300,04±0,90 ^{aD}	229,06±0,59 ^{aE}	227,69±0,68 ^{aE}
OX1	343,29±4,79 ^{cA}	293,10±2,78 ^{cC}	302,31±2,07 ^{cB}	200,35±0,68 ^{bD}	152,90±1,36 ^{cE}	151,92±1,18 ^{cE}
OX2	326,63±3,74 ^{dA}	291,73±2,12 ^{cdB}	296,43±2,96 ^{cdB}	200,55±0,68 ^{bC}	151,14±0,68 ^{cd}	148,39±0,90 ^{cd}
GC	303,10±2,94 ^{eA}	286,63±0,90 ^{dB}	290,55±3,24 ^{dB}	200,16±0,59 ^{bC}	150,35±0,59 ^{cd}	145,65±0,59 ^{eD}
BRANCO	453,57±1,70 ^{bA}	429,45±0,34 ^{bC}	434,75±0,68 ^{eB}	300,43±1,76 ^{aD}	225,92±1,48 ^{bE}	219,06±1,02 ^{bF}

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante. Resultados expressos em mg (AG).L⁻¹.

*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).

A partir dos resultados obtidos é possível verificar que dentre os amidos com potencial clarificante utilizados, o amido com maior teor de oxidação (OX2) foi o que apresentou a maior eficácia no sequestro de compostos fenólicos durante o período de maturação de cervejas artesanais. Ao longo de 21 dias de maturação, a goma carragena (GC) apresenta uma leve vantagem sobre os amidos oxidados.

O gráfico 2. mostra a variação do teor de compostos fenólicos na cerveja artesanal com o decorrer do tempo.

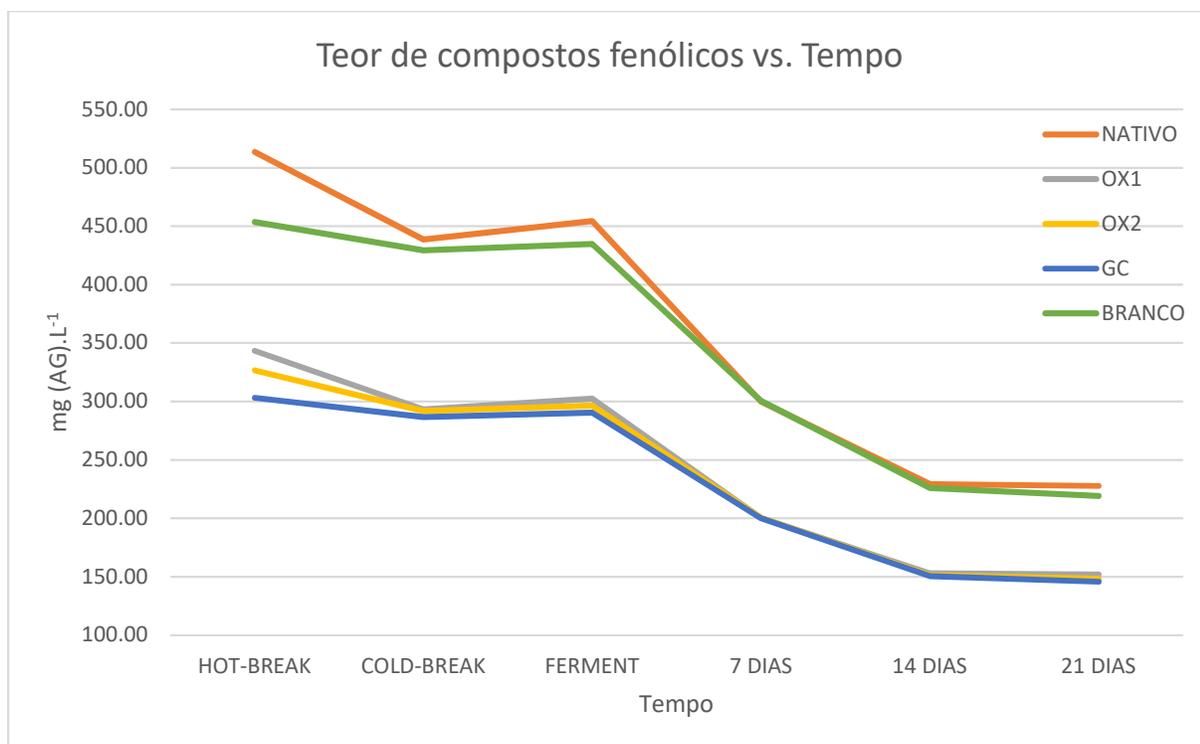


Gráfico 2. Variação do teor de compostos fenólicos em decorrência do tempo.

A partir da análise gráfica, fica possível a observação de um comportamento muito semelhante, de sequestro de compostos fenólicos, entre ambos os amidos modificados e a goma carragena, ainda que haja certa discrepância entre os valores. O mesmo comportamento pode ser observado na comparação entre o amido de batata nativo (NATIVO) e a amostra de branco, sem clarificantes.

De acordo com Marova (2010), o malte contem cerca de 11 compostos fenólicos individuais, são eles o ácido gálico, (-)catequina, epicatequina, ácido ferulico, ácido clorogenico, morina, rutina, quercetina, caempherol, naringenina e luteolina . A presença de compostos fenólicos na cerveja, também referidos como polifenóis, pode gerar complexos com as proteínas presentes, formando compostos que tornam a cerveja opaca de forma temporária ou permanente. Essas instabilidades físicas, causadas pela interação dos polifenóis com proteínas, podem ser resolvidos por filtração com o composto PVPP (polyvinylpyrrolidone) ou pela ação de agentes clarificantes pós-fermentação. A remoção dos compostos fenólicos da cerveja se mostra como fator de

direta relação com o aumento da vida de prateleira das cervejas, sejam elas artesanais ou comerciais (ARON, 2010).

5.4.3 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS

A metodologia de quantificação de proteínas presentes no mosto e na cerveja forneceu os seguintes resultados, expressos na Tabela 11.

Tabela 11. Composição de proteínas no decorrer da produção de cerveja artesanal. g (BSA).L⁻¹

Amostra	HOT BREAK	COLD BREAK	FERMENTAÇÃO	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
NATIVO	3,25±0,03 ^{aA}	2,20±0,04 ^{bcC}	2,91±0,02 ^{aB}	1,95±0,02 ^{abD}	1,96±0,02 ^{aD}	1,98±0,03 ^{aD}
OX1	2,51±0,05 ^{bcB}	2,35±0,05 ^{aC}	2,85±0,01 ^{aA}	1,88±0,02 ^{bcD}	1,84±0,01 ^{bD}	1,85±0,01 ^{bD}
OX2	2,49±0,03 ^{bcA}	2,03±0,04 ^{dB}	2,43±0,01 ^{cA}	1,87±0,02 ^{cC}	1,83±0,01 ^{cCD}	1,77±0,03 ^{cD}
GC	2,56±0,02 ^{cB}	2,16±0,02 ^{cC}	2,67±0,02 ^{bA}	1,89±0,04 ^{bcD}	1,88±0,01 ^{bD}	1,88±0,01 ^{bD}
BRANCO	2,38±0,11 ^{cB}	2,28±0,04 ^{abB}	2,63±0,04 ^{bA}	1,98±0,03 ^{aC}	1,98±0,01 ^{aC}	1,96±0,01 ^{aC}

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante. Resultados expressos em g (BSA).L⁻¹.

*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).

Observou-se que o tempo de maturação da cerveja artesanal possui influência direta na decantação das proteínas da cerveja, onde quanto mais longa é a maturação, maior a remoção das proteínas do meio. Ao final do processo de maturação o amido de maior teor de oxidação (OX2) apresenta uma maior eficácia na precipitação das proteínas, quando comparado ao clarificante de uso comercial (goma carragena, GC).

A variação dos teores de proteínas nas amostras de cerveja, em função do tempo, está descrita no Gráfico 3.

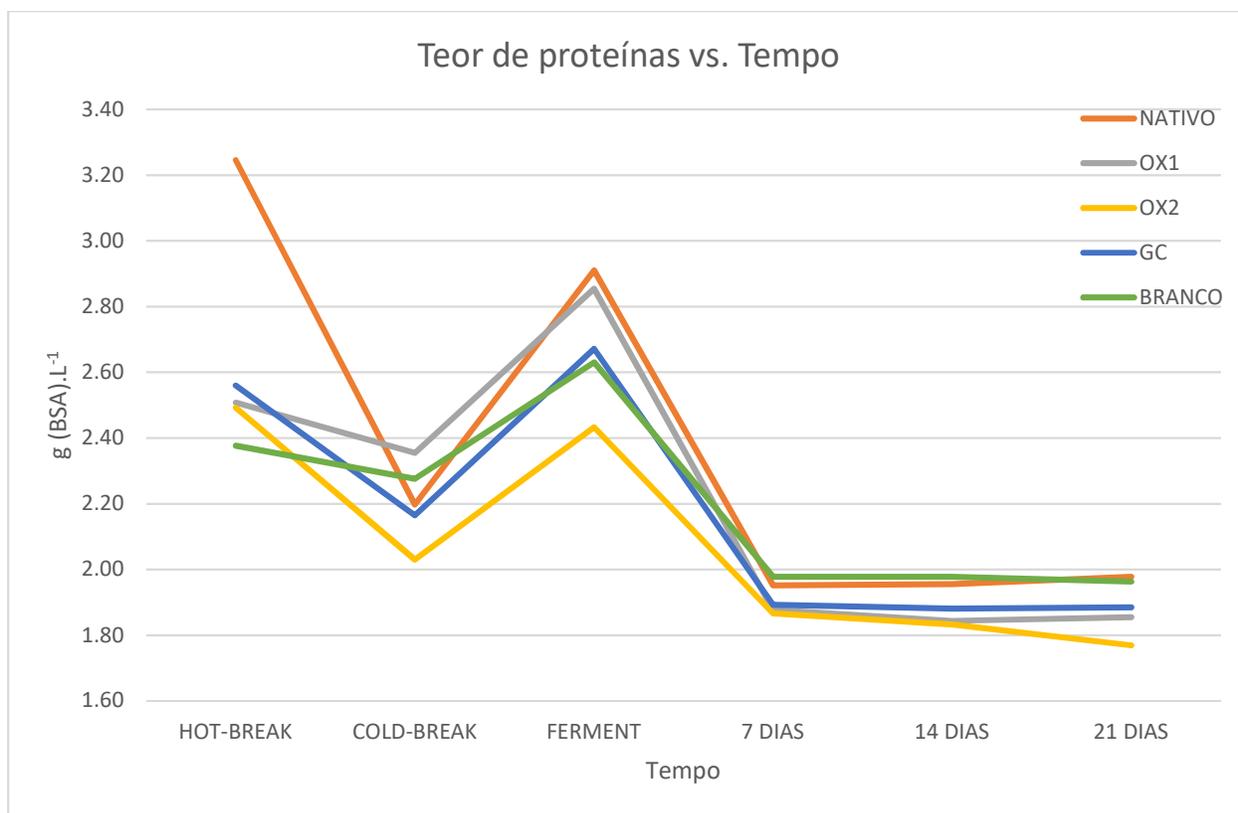


Gráfico 3. Variação do teor de proteínas em decorrência do tempo.

Através da análise gráfica dos resultados obtidos, pode-se constatar a tendência do amido de maior teor de carboxilas (OX2) ao sequestro de proteínas. Verifica-se também a semelhança de comportamento entre a goma carragena (GC) e o amido de menor teor de carboxilas (OX1).

A remoção das proteínas da cerveja ocorre com o intuito de melhorar a estabilidade física da mesma, diminuindo também a opacidade da cerveja. Quando há excesso de proteínas em suspensão, eventualmente estas se combinam com os taninos da cerveja, formando compostos enevoados que conferem opacidade a cerveja. O mecanismo provável a formar a “nevoa” na cerveja são suspensões coloidais de complexos de proteína-polifenóis (REHMANJI, 2005). Em outras palavras, a remoção dessas proteínas não apenas evita que a cerveja fique opaca, como a mantém clarificada por um período mais longo de tempo, após seu engarrafamento (BYO, 2006).

5.4.4 TURBIDEZ

As leituras dos espectros, na faixa de 600 nm, fornecem uma avaliação da variação de turbidez do mosto e da cerveja de acordo com o tempo de utilização dos compostos clarificantes. Os resultados encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12. Variação da turbidez da cerveja durante o processo de fabricação.
ABSORBÂNCIA

Amostra	HOT BREAK	COLD BREAK	FERMENTAÇÃO	7 DIAS	14 DIAS	21 DIAS
NAT	0,653±0,001 ^{aA}	0,637±0,006 ^{cB}	0,487±0,003 ^{aC}	0,118±0,002 ^{bD}	0,082±0,002 ^{aE}	0,078±0,001 ^{bE}
OX1	0,688±0,008 ^{aA}	0,669±0,003 ^{aB}	0,478±0,003 ^{aC}	0,097±0,001 ^{cD}	0,083±0,001 ^{aE}	0,074±0,001 ^{cE}
OX2	0,666±0,001 ^{aA}	0,652±0,004 ^{bB}	0,391±0,005 ^{cC}	0,081±0,003 ^{dD}	0,065±0,002 ^{bE}	0,051±0,002 ^{dE}
GC	0,598±0,006 ^{aA}	0,087±0,004 ^{dC}	0,237±0,003 ^{dB}	0,059±0,003 ^{eDE}	0,062±0,001 ^{bD}	0,051±0,001 ^{dE}
BRANCO	0,647±0,003 ^{aA}	0,631±0,004 ^{cB}	0,402±0,004 ^{bC}	0,137±0,002 ^{aD}	0,082±0,001 ^{aE}	0,083±0,001 ^{aE}

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante.

*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 ($p < 0,05$).

A partir dos resultados obtidos nas leituras de absorbância observa-se que até a o vigésimo primeiro dia de maturação das cervejas, todos os clarificantes utilizados apresentaram ação na remoção da turbidez do meio. Ainda que haja uma pequena variação no desvio padrão das amostras, o amido de maior teor de oxidação (OX2) apresentou-se tão eficiente quanto a goma carragena na diminuição dos valores de turbidez da cerveja, ao final de 21 dias de maturação.

A variação das leituras de absorbância, no decorrer do tempo, está expressa graficamente no Gráfico 4.

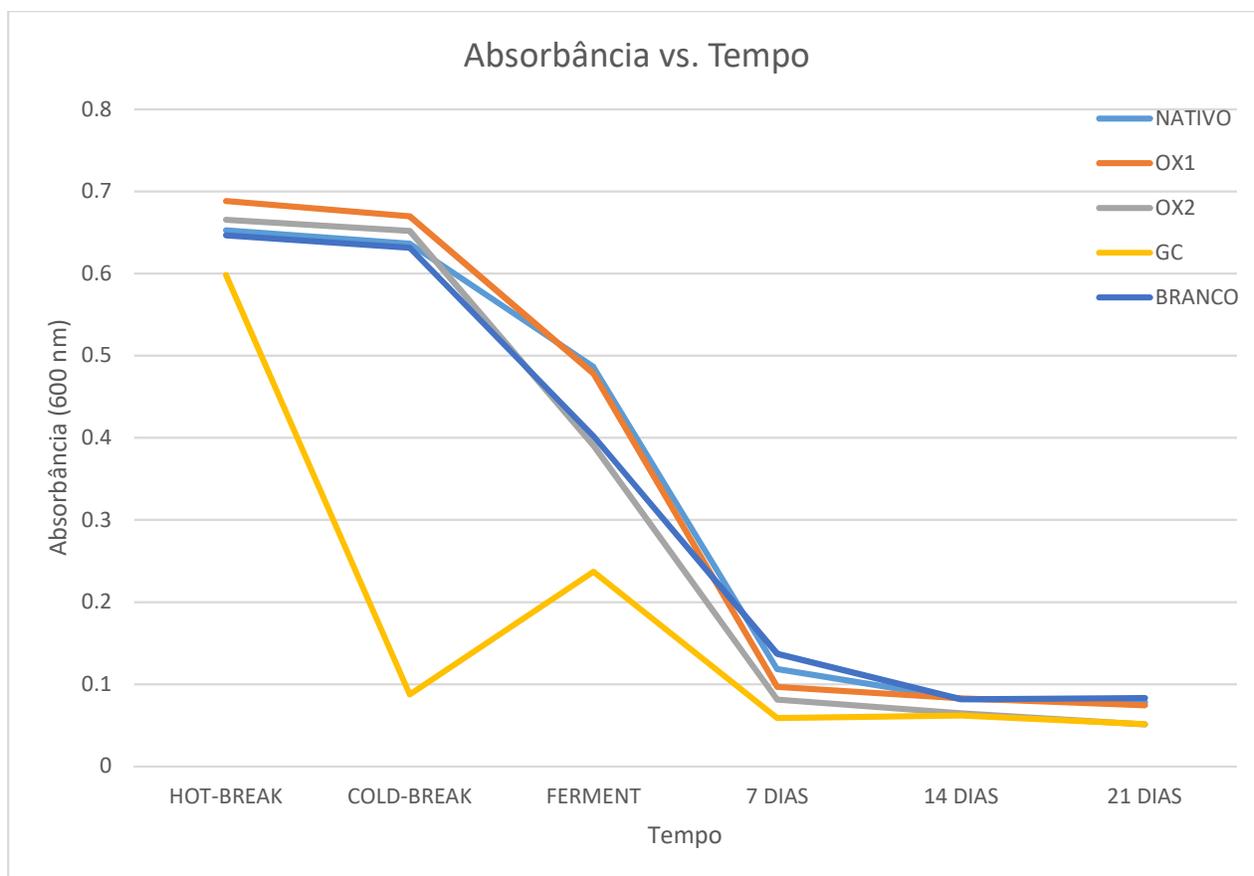


Gráfico 4. Variação da absorbância em decorrência do tempo.

A variação da turbidez da cerveja, medida pela absorbância das amostras na faixa de 600 nm, aponta a uma maior atuação da goma carragena (GC) durante os primeiros 7 dias de maturação seguida por sua estabilização, ao passo que os amidos menos oxidado (OX1) ainda mostrou atuação relevante até o 14º dia e o amido de maior teor de oxidação mostrou-se em decréscimo até o 21º dia de maturação.

5.4.5 TEOR ALCOÓLICO

A partir da utilização da metodologia proposta por Plata-Oviedo (2009), foram obtidos os seguintes resultados para a determinação do teor alcoólico das cervejas estilo American Pale Ale, apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Teores alcoólicos para os diferentes fermentadores.

Amostra	Teor Alcoólico (%)
NATIVO	4,59 ± 0,02 ^b
OX1	4,63 ± 0,03 ^a
OX2	4,59 ± 0,02 ^b
GC	4,59 ± 0,02 ^b
BRANCO	4,62 ± 0,04 ^a

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NATIVO = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante. Resultados expressos em % v/v.

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

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

Os resultados obtidos na medição do teor alcoólico das cervejas artesanais do tipo American Pale Ale estão dentro dos valores esperados a partir da formulação da mesma. Ainda que tenha havido uma pequena variação no teor alcoólico, este não parece ter sido influenciado pelo tipo de clarificante utilizado no processo de fabricação.

5.4.6 COMPARAÇÃO DOS FATORES

A partir dos resultados obtidos, foi possível uma análise matemática comparativa dos fatores obtidos. Para tal, utilizou-se o software MATLAB 2008R.

Tabela 14. Comparação quantitativa dos tratamentos utilizados.

Código	Tratamento	FENÓLICOS (mg.L⁻¹)	PROTEÍNAS (g.L⁻¹)	TURBIDEZ (AU)
1	NAT HOT-BREAK	513.57	3.25	0.6526
2	NAT COLD-BREAK	438.67	2.20	0.6366
3	NAT FERMENT	454.35	2.91	0.4866
4	NAT 7 DIAS	300.04	1.95	0.1183
5	NAT 14 DIAS	229.06	1.96	0.0820
6	NAT 21 DIAS	227.69	1.98	0.0780
7	OX1 HOT-BREAK	343.29	2.51	0.6883
8	OX1 COLD-BREAK	293.10	2.35	0.6696
9	OX1 FERMENT	302.31	2.85	0.4783
10	OX1 7 DIAS	200.35	1.88	0.0966
11	OX1 14 DIAS	152.90	1.84	0.0826
12	OX1 21 DIAS	151.92	1.85	0.0743
13	OX2 HOT-BREAK	326.63	2.49	0.6656
14	OX2 COLD-BREAK	291.73	2.03	0.6520
15	OX2 FERMENT	296.43	2.43	0.3910
16	OX2 7 DIAS	200.55	1.87	0.0813
17	OX2 14 DIAS	151.14	1.83	0.0646
18	OX2 21 DIAS	148.39	1.77	0.0510
19	GC HOT-BREAK	303.10	2.56	0.5983
20	GC COLD-BREAK	286.63	2.16	0.0873
21	GC FERMENT	290.55	2.67	0.2370
22	GC 7 DIAS	200.16	1.89	0.0586
23	GC 14 DIAS	150.35	1.88	0.0620
24	GC 21 DIAS	145.65	1.88	0.0513
25	BCO HOT-BREAK	453.57	2.38	0.6467
26	BCO COLD-BREAK	429.45	2.28	0.6313
27	BCO FERMENT	434.75	2.63	0.4020
28	BCO 7 DIAS	300.43	1.98	0.1370
29	BCO 14 DIAS	225.92	1.98	0.0816
30	BCO 21 DIAS	219.06	1.96	0.0833

Nota: OX1 = Amido de batata oxidado durante 30 minutos; OX2 = Amido de batata oxidado durante 120 minutos; NAT = Amido de batata nativo; GC = Goma Carragena comercial; BRANCO = Amostra controle sem clarificante.

O grupo 1, presente no Anexo 1, mostra um menor teor de proteínas e compostos fenólicos, este grupo é composto pelos seguintes tratamentos codificados: 5, 6, 10, 11, 12, 16, 17, 18, 22, 23, 24, 29, 30. Estes dados apontam para uma maior ação dos agentes

clarificantes nos tratamentos superiores a 14 dias de maturação. O grupo 2, contendo os tratamentos 4, 7, 8, 13, 14, 15, 19, 20, 21, 28 contem teores intermediários de proteínas e compostos fenólicos em sua composição. O grupo 3, contendo os demais tratamentos apresentam os valores mais elevados para os compostos estudados.

O Anexo 2 contém a comparação quantitativa entre compostos fenólicos vs. turbidez. O grupo 4 estudado aponta a mesma tendência, onde os tratamentos superiores aos 14 dias de maturação indicam uma maior eficácia na diminuição da turbidez da cerveja, aliada ao sequestro dos compostos fenólicos presentes. O grupo 4 encontra-se no quadrante negativo do eixo dos fenólicos e turbidez.

E, por fim, o Anexo 3 faz uma comparação quantitativa entre os teores de proteínas pela turbidez da cerveja, demonstrando o comportamento supracitado.

6. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que amidos modificados por oxidação com hipoclorito de sódio apresentam resultados positivos em termos de clarificação de cervejas artesanais. Estes amidos apresentam maiores taxas de sequestro de proteínas e compostos fenólicos em etapas posteriores a fermentação, em especial no decorrer da maturação. Em contraponto, as etapas iniciais, como pós-whirlpool e fermentação, apresentaram um maior efeito clarificante quando utilizada a goma carragena.

Observou-se a relação direta da intensidade de oxidação dos amidos (variada por tempo de exposição ao agente oxidante, hipoclorito de sódio) com uma queda acentuada nos valores de viscosidade intrínseca, aumento no teor de grupos carboxilas e grupos fosfatados. Outro fato importante correlacionado a intensidade de oxidação está no poder clarificante dos amidos modificados, onde quanto maior o grau de oxidação do amido, maior seu poder de sequestro de proteínas e compostos fenólicos durante o período de maturação da cerveja.

A partir dos dados experimentais obtidos, identifica-se que amidos fosfatados naturalmente e oxidados podem ser utilizados como uma alternativa viável a utilização de goma carragena como agente clarificante no processo de produção de cervejas artesanais. O grande destaque aqui se dá a facilidade de acesso e o baixo custo dos amidos, tanto para sua aquisição como para sua modificação. E, assim sendo, esta apresenta-se como uma alternativa viável e eficiente para microcervejarias ou cervejeiros caseiros que desejam reduzir custos mantendo a qualidade do processo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANHEUSER-BUSCH. **Volume III: The Brewing Process – The process in brief, brewing fermentation, lagering, aging, finishing.** Brewing Guides. Anheuser-Busch, St. Louis, 2016.

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. **Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro.** Ciênc. Tecnol. Alimentos, v. 23, n. 2, p. 121-128, 2003.

ARON, P. M.; SHELLHAMMER, T. H. **A Discussion of Polyphenols in Beer Physical and Flavour Stability.** J. Institute of Brewing, 116(4), 369-380. 2010.

BJCP. **American Pale Ale.** Beer Judge Certification Program. 2008.

BREWERS ASSOCIATION. **Best Practices Guide to Quality Craft Beer: Delivering Optimal Flavor to the Consumer.** Brewers Associations & Shutterstock, v. 1, p. 06-28, 2014.

BORUCH, M. **Transformations of Potato Starch During Oxidation with Hypochlorite.** Starch/Stärke, 37: 91–98. doi:10.1002/star.19850370306, 1985.

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 outubro 2016.

BYO. **Fining Agents: Tips from the Pros**. BYO Fining Brewing Supplies & Equipment. The How-To Homebrew Beer Magazine. v. 1, 2-6. 2006.

CERVBRASIL. **Dados do Setor Cervejeiro**. Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. 2014. Disponível em: <<http://www.cervbrasil.org.br/paginas/index.php?page=dados-do-setor>>. Acesso em 1 nov. 2016.

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

DE CLERCK, J. **A Textbook of Brewing**. London: Chapman & Hall, v. 1. 1958.

FONSECA, L. M.; Gonçalves, J. R.; El Halal, S. L. M.; Pinto, V. Z.; Dias, A. R. G.; Jacques, A.C.; Zavareze, E. R. "**Oxidation of Potato Starch with Different Sodium Hypochlorite Concentrations and Its Effect on Biodegradable Films**." *LWT - Food Science and Technology* 60.2: 714-20. 2015.

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

HEINEKEN. **Wort Clarification, Cooling, and Oxygenation (aeration)**. The Heineken Company. Chapter 4, 1-11. 2015. Disponível em: <<http://www.theheinekencompany.com/media/features>> Acesso em 10 Out. 2016.

HIERONYMUS, S. **For the Love of Hops: The Practical Guide to Aroma, Bitterness, and the Culture of Hops**. Boulder, CO: Brewers Publications, 2012. Print.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. **Carbohidratos en alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. 648p.

LEACH, H. W. Determination of intrinsic viscosity of starches. **Cereal Chemistry**, v. 40, n. 6, p. 593-600, 1963.

LEATHER, R. V. **From Field to Firkin: An Integrated Approach To Beer Clarification and Clarity**. Journal of the Institute of Brewing, vol. 104, pg. 9-18. Fev. 1998.

LIM, S. T., KASEMSUWAN, T., & JANE, J. L. **Characterization of phosphorus in starch by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy**. Cereal Chemistry, 71(5), 488-493, 1994.

LIMA, U. A.; SCHMIDELL, W.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial**. Vol. 3. São Paulo: Blucher, 2001.

MALLETT, J. **Malt: A Practical Guide from Field to Brewhouse**. Boulder, CO: Brewers Publications, 2014.

MANEESRIRAJ, P.; PHETKOA, S.; NARKRUGSAW. **Starch Phosphate production by microwave technique**. Kasetsart J. (Nat. Sci) 32:234-241, 1998.

MAROVA, I.; PARILOVA, K.; FRIEDL, Z.; OBRUCA, S.; DURONOVA, K. **Analysis of Phenolic Compounds in Lager Beers of Different Origin: A Contribution to Potential Determination of the Authenticity of Czech Beer**. *Chromatographia*, v. 73, 83-95. 2010.

PALMER, J. J. **How to Brew: Ingredients, Methods, Recipes, and Equipment for Brewing Beer at Home**. Boulder, CO: Brewers Publications, 2006. Print.

REHMANJI, M.; GOPA, C.; MOLA, A. **Beer Stabilization Technology – Clearly a Matter of Choice**. *Master Brewers Association of America (MBAA)*, vol. 42, no 4., p. 332-338. 2005.

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.

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.

SINGH, J.; KAUR, L. **Advances in Potato Chemistry and Technology**. Riddet Institute and Massey Institute of Food Science and Technology, Massey University, ed. 2, p. 200-250, 2016.

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.

SMITH, R. J.; WHISTLER, R.L.; PASCHALL, E.F. Characterization and analysis of starches. **Starch: chemistry and technology**. v. 2, New York: Academic Press, 1967.

SMITH, B. **FINING AGENTS – IMPROVING BEER CLARITY**. BeerSmith. 2008. Acesso em Out. 2016. <disponível em: <http://beersmith.com/blog/2008/12/30/fining-agents-improving-beer-clarity/>> .

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.

TAGGART, P. Starch as an ingredient: manufacture and application. In: ELIASSON, A.C. **Starch in food: Structure, function and application**. CRC Press, Inc., Boca Raton, 2004.

VAMADEVAM, V.; BERTOFT, E. **Structure-function relationships of starch components**. Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, St. Paul. *Starch/Starke*, v. 66, p. 1-14, 2014.

WARD, I. L. **Wort & Beer Clarification Manual**. Brewers Wholesale Supply, Rhode Island 02840. 1998.

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

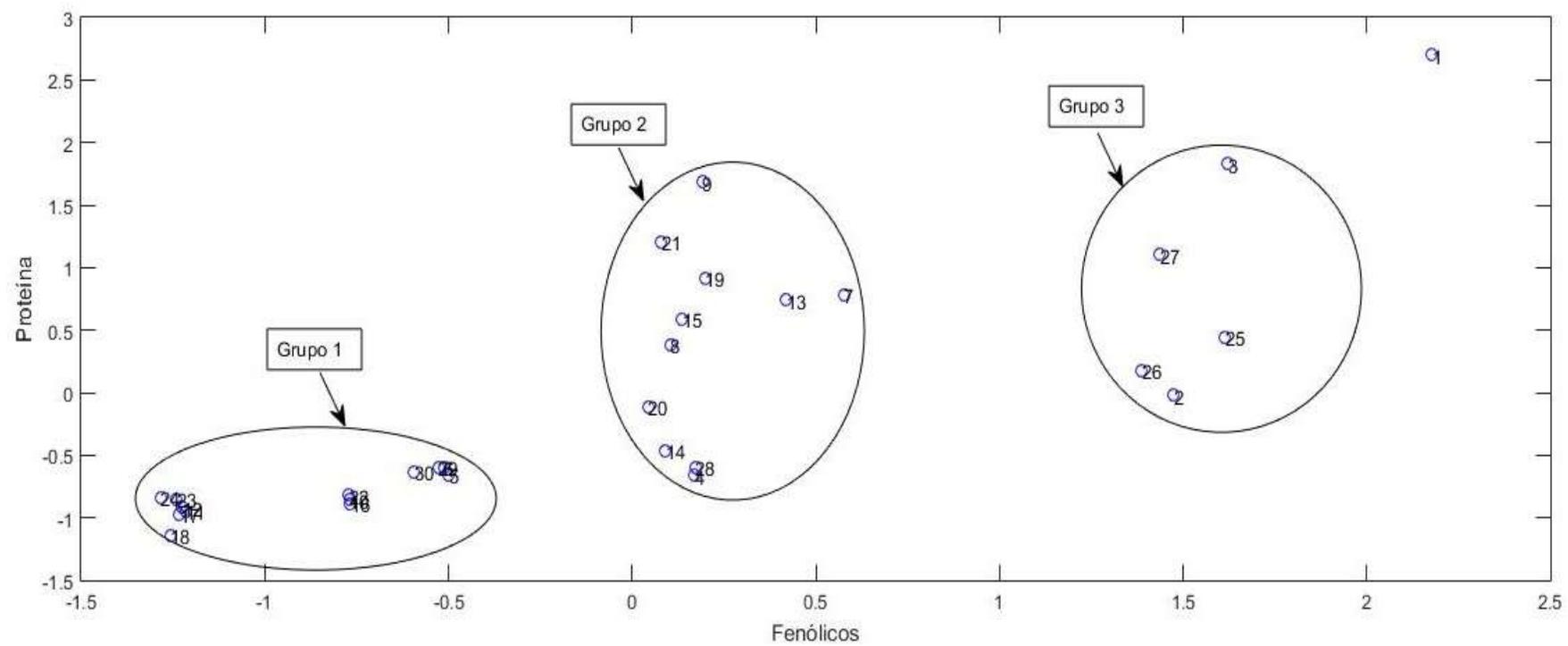
WEI, B.; LI, H.; TIAN Y.; XU, X.; JIN, Z. **"Thermal Degradation Behavior of Hypochlorite-oxidized Starch Nanocrystals under Different Oxidized Levels."**
Carbohydrate Polymers 124 : 124-30. Web. 2015.

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast: The Practical Guide to Beer Fermentation.**
Boulder, CO: Brewers Publications, 2010.

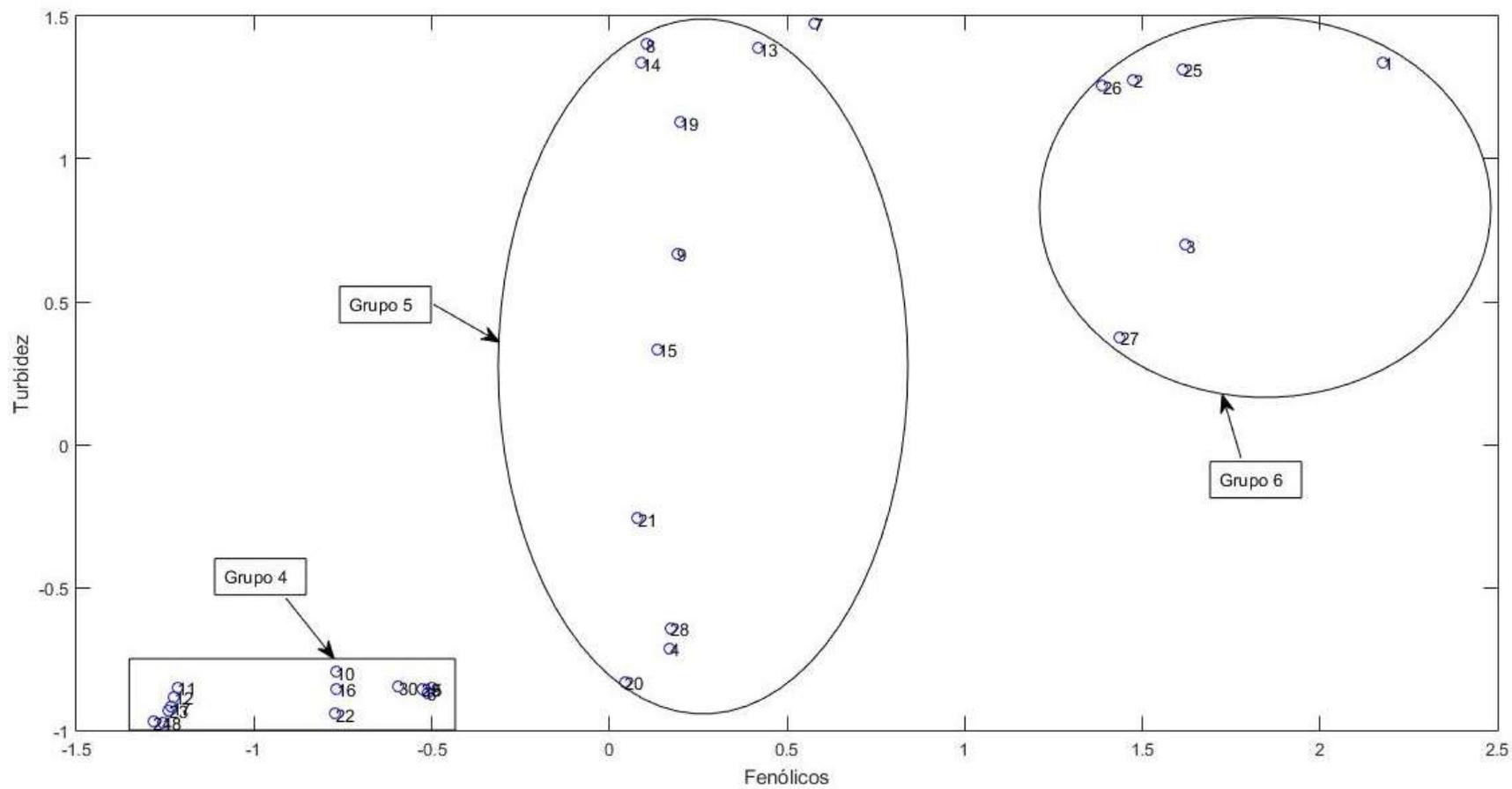
ZHANG, Y. R.; ZHANG S. D.; WANG, X. L.; CHEN, R. Y.; WANG, Y. Z. **"Effect of Carbonyl Content on the Properties of Thermoplastic Oxidized Starch."**
Carbohydrate Polymers 78.1: 157-61. Web. 2009.

ZHANG, Y. R.; WANG X. L.; ZHAO G. M.; WANG Y. Z. **"Preparation and Properties of Oxidized Starch with High Degree of Oxidation."** *Carbohydrate Polymers* 87.4: 2554-562. Web. 2012.

ANEXO 1



ANEXO 2



ANEXO 3

