

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

RAFAELA GALASSI PADOVAN

**AVALIAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO COMBINADO COM EXTRATO DE
BAGAÇO DE UVA COMO CLARIFICANTES DO MOSTO CERVEJEIRO**

**CAMPO MOURÃO
2022**

RAFAELA GALASSI PADOVAN

**AVALIAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO COMBINADO COM EXTRATO DE
BAGAÇO DE UVA COMO CLARIFICANTES DO MOSTO CERVEJEIRO**

**Evaluation of modified starch combined with grape pomace extract as clarifiers
in beer wort**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo

CAMPO MOURÃO

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

RAFAELA GALASSI PADOVAN

**AVALIAÇÃO DE AMIDO MODIFICADO COMBINADO COM EXTRATO DE
BAGAÇO DE UVA COMO CLARIFICANTES DO MOSTO CERVEJEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador(a): Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo

10 de Junho de 2022

Prof. Dr. Fábio Henrique Polisele Scopel
Doutor em Ciências e Tecnologia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. José Hilton Bernardino de Araújo
Doutor em Engenharia Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO
2022**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da minha vida e que nela posso desfrutar de aprendizados como a realização desse projeto. Por toda força divina que não me deixou desistir, pela minha fé e perseverança que mesmo quando abaladas, nunca foram cessadas.

Sem o apoio da minha família e amigos eu jamais chegaria até aqui. Obrigada pai e mãe por acreditarem em mim e permitirem que eu pudesse voar para longe em busca de um sonho e mesmo diante todas as dificuldades enfrentadas, vocês nunca soltaram a minha mão. Essa conquista também é de vocês.

Obrigada também a todos meus familiares, vocês são a minha maior motivação e inspiração para alcançar os meus objetivos. Em especial gostaria de agradecer meu irmão Raul e meus primos, Isadora e Marcus, que acompanharam de perto essa caminhada, sempre me motivando a dar o meu melhor e me acalmado em momentos de angústia. Agradeço ao meu namorado Yang, por toda paciência e por ser o maior incentivador do meu trabalho, por sempre acreditar no meu potencial, mais do que eu mesma acreditava.

A todos os meus amigos que estiveram comigo durante essa caminhada de maneira direta ou indireta. Obrigada Gabriela, Mirele e Laura por terem se tornado a minha família durante esses anos longe de casa. Obrigada Caroliny, Jacqueline e Maria Victória por serem meu alicerce ao longo do curso. Obrigada Mylena por dividir comigo esse momento, por todos os dias e noites que passamos desenvolvendo essa pesquisa.

Ao final da minha graduação tive a oportunidade de realizar meu estágio com uma pessoa maravilhosa e gostaria de agradecer-lá também. Caroline, você foi um presente e peça essencial para a conclusão desse projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo pelo conhecimento compartilhado, por toda a ajuda, paciência e incentivo durante esses quase dois anos de trabalho.

A todos os professores da UTFPR que fizeram parte da minha jornada acadêmica, minha eterna gratidão.

RESUMO

O bagaço de uva é um resíduo obtido da viticultura e muitas vezes acaba sendo desperdiçado. Por ser rico em compostos bioativos de interesse para as indústrias de alimentos, química e farmacêutica, é viável a utilização desse resíduo tão nobre. Analisando a sua composição, é possível fazer uma breve comparação entre os clarificantes de uso comercial utilizados na produção de cervejas e estudar uma maneira eficiente para aplicação e obtenção de um resultado semelhante, aumentando sua eficiência, reduzindo custos de produção e ainda utilizando um auxiliar de processamento orgânico. Esta pesquisa teve como objetivo a comparação entre o extrato do bagaço de uva e clarificantes comerciais (polivinilpirrolidona e gelatina) na aplicação em cerveja ale como clarificador na etapa pós fermentação e a utilização de um clarificante na etapa de fervura. O clarificante atua por meio do sequestro de proteínas e compostos fenólicos presentes no mosto. As cargas positivas desses compostos são unidas às cargas negativas presentes nos clarificantes, eliminando as forças repulsivas e obtendo precipitados. Foram avaliadas a quantificação de proteínas, compostos fenólicos, análise de turbidez e claridade. Através disso, foi possível concluir que a utilização do extrato do bagaço de uva é uma alternativa viável quando utilizada com intuito de aumentar a estabilidade da cerveja, uma vez que este apresentou resultado favorável na remoção de compostos, não sendo superior à amostra contendo clarificante de fervura em relação ao aumento da claridade e diminuição da turbidez.

Palavras chave: clarificante; cerveja artesanal; bagaço de uva

ABSTRACT

Grape pomace is a residue obtained from viticulture and often ends up being wasted. Being rich in bioactive compounds of interest to the food, chemical and pharmaceutical industries, it is feasible to use this noble residue. Analyzing its composition, it is possible to make a brief comparison between the commercial use clarifiers used in the production of beers and to study an efficient way to apply and obtain a similar result, increasing its efficiency, reducing production costs and still using an organic processing assistant. This research aimed to compare grape pomace extract with commercial clarifiers (polyvinylpolypyrrolidone and gelatin) in the application in ale beer as a clarifier in the post-fermentation stage and the use of a clarifier in the boil stage. The clarifier acts by sequestering proteins and phenolic compounds present in the must. The positive charges of these compounds are united to the negative charges present in the clarifiers, eliminating repulsive forces and obtaining precipitates. The quantification of proteins, phenolic compounds, turbidity and clarity analysis were evaluated. Through this, it was possible to conclude that the use of grape pomace extract is a viable alternative when used with the purpose of increasing beer stability, once it presented a favorable result in the removal of compounds, not being superior to the sample containing boil clarifier in relation to the increase of clarity and decrease of turbidity.

Keywords: clarifying; craft beer; grape pomace

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Fluxograma do processo de fabricação de cerveja.....16
- Figura 2** - Concepção do mecanismo de interação polifenol-proteína.....20
- Figura 3** - Estrutura química dos principais flavanóis existentes na uva.....23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Cervejas elaboradas com amido batata esterificado com ácido cítrico como clarificante de fervura e diferentes clarificantes na etapa de maturação.....	30
Tabela 2 - Teor de proteínas (mg/L) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10)	31
Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos (mgEAG/L) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10).....	33
Tabela 4 - Valor de Turbidez (NTU) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10).....	34
Tabela 5 - Valor de Absorbância (600nm) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10).....	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Justificativa	10
1.2	Objetivos	13
1.2.1	Objetivos específicos.....	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	Ingredientes	14
2.1.2	Malte.....	14
2.1.3	Lúpulo.....	15
2.2	Fabricação do mosto cervejeiro	16
2.2.1	Moagem.....	16
2.2.2	Mosturação.....	17
2.2.3	Filtração.....	17
2.2.4	Fervura.....	17
2.2.5	Resfriamento.....	18
2.2.6	Fermentação.....	18
2.2.7	Maturação.....	18
2.3	Clarificação do mosto	19
2.3.1	Carragena.....	20
2.3.2	Sílica gel.....	21
2.3.3	Gelatina.....	21
2.3.4	Polivinilpirrolidona (PVPP).....	21
2.3.5	Amidos modificados.....	22
2.4	Bagaço de uva	22
3	METODOLOGIA	24
3.1	Materiais	24
3.2	Procedimentos	24
3.2.1	Obtenção e secagem do extrato de bagaço de uva Isabel.....	24
3.2.2	Quantificação das proantocianidinas do extrato seco de bagaço de uva isabel.....	25
3.2.3	Produção da cerveja ALE e aplicação dos clarificantes.....	25
3.2.4	Avaliação da clarificação da cerveja.....	27
3.2.4.1	Quantificação das proteínas.....	27
3.2.4.2	Quantificação dos compostos fenólicos totais.....	27
3.2.4.3	Determinação da claridade.....	28
3.2.4.4	Determinação da turbidez.....	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1	Avaliação da clarificação	30
4.1.1	Determinação das proteínas.....	30
4.1.2	Determinação do teor de compostos fenólicos totais.....	32
4.1.3	Determinação da turbidez.....	34

4.1.4	Determinação da clareza.....	35
4.1.5	Avaliação global do desempenho dos clarificantes.....	36
5	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

Segundo a legislação brasileira, cerveja é a bebida resultante da fermentação alcoólica do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte e água potável, sob ação de levedura, adicionada de lúpulo podendo parte da cevada ser substituída por adjunto cervejeiro. Conforme o capítulo IV da Instrução Normativa nº 65, 10 de dezembro de 2019, fica proibida a adição no processo de produção de cerveja e malta qualquer tipo de álcool, qualquer que seja a procedência (BRASIL, 2019).

Cerveja é uma bebida alcoólica fermentada a partir de açúcares liberados pelo amido dos grãos, sendo o malte de cevada o principal grão utilizado na produção de cervejas. Esses açúcares são convertidos por meio de reações enzimáticas que ocorrem em uma mistura dos grãos e água, denominada mosturação. Resumidamente, o produto da mosturação é aquecido até a fervura, onde é adicionado o lúpulo. Ao final, o mosto é resfriado e a levedura é acrescentada, onde se inicia a fermentação até a obtenção do produto final (OLIVER, 2020).

A indústria cervejeira pode ser considerada uma das atividades mais importantes do século XXI e a participação do Brasil nesse mercado chama atenção de grandes empresas do setor, apesar de ter crescido significativamente a partir da segunda metade de 1980 (FREITAS, 2015).

O perfil sensorial de cervejas no Brasil vem sendo modificado gradualmente com influência das principais tendências europeias e americanas, resultando em uma cerveja mais leve e refrescante, menos encorpada e com menor graduação alcoólica (MEGA *et al.*, 2011).

1.1 Justificativa

A qualidade da cerveja é medida pelo conjunto de características sensoriais, que incluem aparência, onde temos a cor, clareza, carbonatação e espuma; aroma e sabor; e estabilidade. Tradicionalmente, os estilos claros de cerveja podem ser vistos pelos consumidores como um critério de qualidade, por esse motivo, o

processo de clarificação em cervejas se torna de grande importância no mercado (BREWERS ASSOCIATION, 2014).

A clarificação do mosto cervejeiro consiste na remoção de levedura e da proteína sedimentada. Os agentes clarificantes mais utilizados são: a cola de peixe (ictiocola ou isinglass), ácido tânico, carragena, polivinilpolipirrolidona (PVPP) e sílicas géis (BRIGGS *et al.*, 2004; ESSLINGER, 2009).

Agentes clarificantes em cerveja são auxiliares de processamento, tendo como objetivo remover a turbidez proveniente de proteínas e leveduras da cerveja não filtrada. Durante a fermentação, células de levedura e proteínas derivadas do malte formam uma suspensão coloidal, que basicamente são partículas muito pequenas e carregadas que permanecem suspensas no líquido. Quando adicionados, os agentes clarificantes interagem com essas partículas formando uma partícula maior, chamada de floco. Esses flocos sedimentam, o que facilita a sua remoção (OLIVER, 2020).

O bagaço de uva corresponde ao resíduo sólido gerado a partir da elaboração do vinho. Constituído por cascas, sementes e resíduos de polpa, vem sendo muito utilizado na indústria de alimentos devido ao potencial de reaproveitamento dos compostos fenólicos e fibras antioxidantes oriundas das cascas da uva. Composto principalmente de fibra alimentar, o bagaço de uva ainda apresenta uma quantidade significativa de polissacarídeos neutros, substâncias pécticas ácidas, proantocianidinas insolúveis, lignina, proteínas e fenóis estruturais (BENDER, 2020).

As proantocianidinas (PA) encontradas no bagaço de uva, também denominados taninos condensados (TC), compreendem um grupo de substâncias formadas por unidades de polihidroxi-flavan-3-ol que formam polímeros por ligações carbono-carbono entre subunidades de flavanol. A reatividade das PA com moléculas de importância biológica tem importantes consequências nutricionais e fisiológicas. Os seus múltiplos grupos fenólicos hidroxil levam à formação de complexos com proteínas e com outras macromoléculas como polissacarídeos (SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001).

As proantocianidinas têm grande importância na indústria cervejeira porque além de influenciar nas propriedades da cerveja, realizam ligações com proteínas formando um precipitado e contribuem para a capacidade antioxidativa (ZIMMERMANN, 2005).

Baseado na avaliação do uso de extratos etanólicos do bagaço de uva tinta como potenciais clarificadores de cerveja, foram utilizados como inspiração trabalhos científicos de JELINEK *et al.*, 2014 e LINFORTH *et al.*, 2015 que relatam o uso de extratos de resíduos de lúpulo ou de lúpulo in natura, fonte de proantocianidinas, como agentes clarificantes de cerveja que ao ser adicionados na etapa de maturação resultaram em cervejas claras.

Arita (2019) em sua pesquisa relata que o dextrina de amido de batata esterificada com ácido cítrico ao ser usada como clarificante de fervura conduziu a cervejas de claridade próximas às obtidas com o clarificante comercial carragena.

O presente trabalho teve por finalidade usar no processo de clarificação da cerveja ale dextrina de amido de batata esterificado com ácido cítrico e na etapa de maturação extrato etanólico de bagaço de uva visando o avaliar neste último, o potencial clarificante por possuir proantocianidinas, substâncias com capacidade de “sequestrar” proteínas, uns fatores responsáveis da turbidez em cerveja.

1.2 Objetivos

O presente trabalho tem por objetivo a comparação do extrato do bagaço de uva e clarificantes comerciais (PVPP, gelatina) como clarificantes de cerveja ale na etapa pós fermentação, de mosto tratado na etapa de fervura com clarificante de amido de batata esterificado com ácido cítrico.

1.2.1 Objetivos específicos

- Comparar o efeito clarificante da cerveja, na etapa pós-fermentação, entre o extrato etanólico de bagaço de uva e os clarificantes comerciais polivinilpolipirrolidona (PVPP) e gelatina.
- Avaliar o efeito clarificante do extrato etanólico do bagaço de uva, dos clarificantes comerciais e do clarificante de fervura através das análises: quantificação de proteínas, de compostos fenólicos, turbidez e claridade (absorbância a 600 nm).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Para melhor compreensão do tema e os assuntos abordados, é importante conhecer os ingredientes e processos relacionados à produção de cerveja.

2.1 Ingredientes

2.1.1 Água

A água é o ingrediente em maior quantidade na cerveja, variando entre 85% e 95% da sua composição e por isso tem papel fundamental na qualidade da cerveja (OLIVER, 2020). Na fabricação de cerveja, a água utilizada deve ser potável e pode sofrer correções químicas de acordo com sua composição (CARVALHO, 2007).

A química da água gera impacto no sabor da cerveja e um dos elementos a se considerar é sua dureza. A água dura possui teores elevados de sulfatos e bicarbonatos de cálcio e magnésio (OLIVER 2020). Esses sais minerais possuem influência no produto final pois são capazes de afetar a conversão de amido no mosto (PALMER, 2006). O controle sobre o pH da água também é fundamental na fabricação de cerveja e, em geral, deve estar entre 6,5 a 7,0. Entretanto, cada estilo de cerveja requer composições químicas diferentes, podendo assim, variar (CARVALHO, 2007).

2.1.2 Malte

O malte é um produto obtido a partir da germinação parcial de grãos de cereais. Em geral, os cereais utilizados para produção de malte são: milho, trigo, centeio, aveia e cevada, sendo a cevada o mais utilizado devido a sua composição influenciar positivamente na qualidade do produto final. A cevada possui alto teor de proteínas capazes de fornecer aminoácidos para o crescimento da levedura, possui substâncias nitrogenadas importantes na formação da espuma da cerveja além da sua casca tornar-se um auxiliar conveniente no processo de filtragem (CARVALHO, 2007; HARDWICK, 1995).

2.1.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus*) é uma angiosperma pertencente à família *Cannabaceae*, e quando adicionado à cerveja, confere sabor e aroma (HARDWICK, 1995).

O aroma é influenciado pelos óleos essenciais presentes no lúpulo, esses óleos são substâncias voláteis e fornecem o aroma característico da cerveja. O sabor é determinado através das substâncias não voláteis, e a maior contribuição para o amargor se dá através dos iso- α -ácidos produzidos através da adição de lúpulo para a fervura do mosto. Os iso- α -ácidos são provenientes da isomerização dos alfa-ácidos presentes nas resinas de lupulina, glândulas da flor de lúpulo (HARDWICK, 1995; OLIVER, 2020).

2.1.4 Levedura

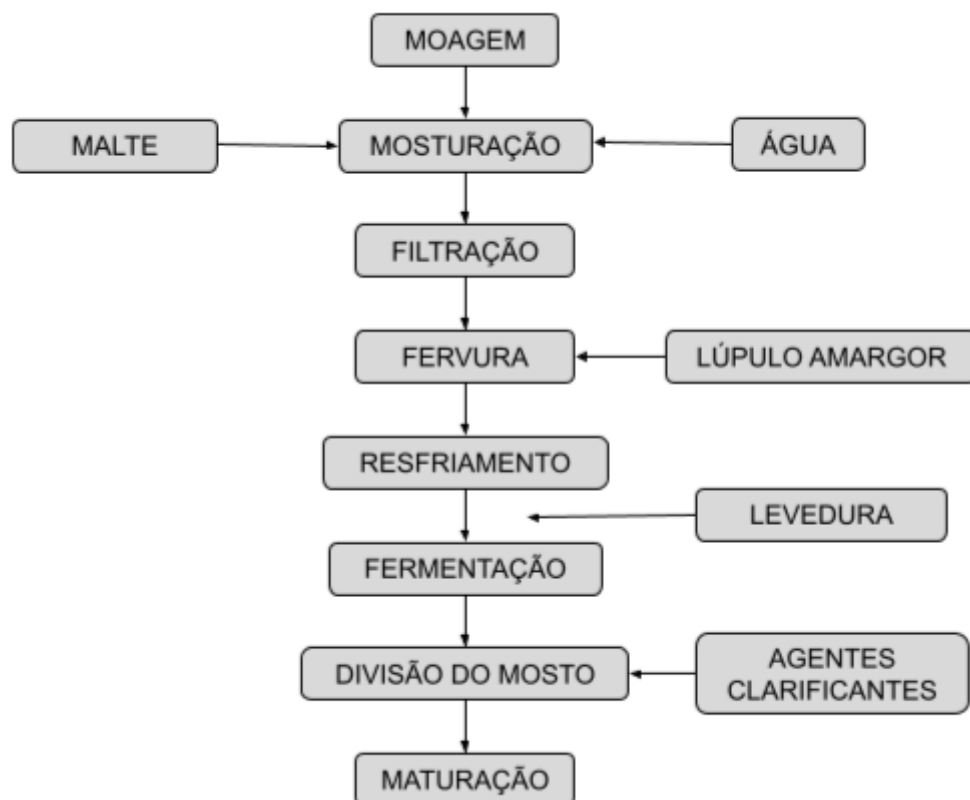
Leveduras são organismos eucariontes e possuem um papel relevante na indústria de alimentos, em especial na produção de cervejas. O desempenho das leveduras cervejeiras na fermentação é a metabolização dos constituintes do mosto em etanol e outros produtos da fermentação com intuito de produzir uma cerveja com estabilidade e qualidade. Dentre as leveduras utilizadas na produção de cerveja, deve ser dado destaque às do gênero *Saccharomyces* por sua maior aplicação em diversos estilos de cerveja. (CARVALHO, 2006; ESSLINGER, 2009; RODRIGUES, 2015).

A floculação é um fenômeno de grande importância no desempenho da fermentação ocasionado através da utilização de leveduras, sendo definido como a capacidade do fermento construir aglomerados de células. Caso o nível de aeração da levedura seja alto, pode ocorrer elevação no nível de diacetil, composto capaz de alterar sensorialmente o produto. Em contrapartida, se o nível de aeração for baixo, as células de levedura podem ficar em suspensão, trazendo complicações na etapa de filtração (ESSLINGER 2009).

2.2 Fabricação do mosto cervejeiro

Szwajgier e Bancarzewska (2011) descrevem em seu trabalho a metodologia para a fabricação da cerveja, que consiste nas seguintes etapas:

Figura 1- Fluxograma do processo de fabricação de cerveja



Fonte: Autoria própria (2022).

2.2.1 Moagem

A etapa de moagem consiste na quebra dos grãos de malte a fim de produzir pequenas partículas para que o amido presente no grão, quando em contato com a água, acelera as reações enzimáticas do malte (ARAÚJO, 2016).

A moagem tem influência na qualidade do produto final, pois as dimensões do grão moído estão diretamente relacionadas às reações físico-químicas do processo produtivo. A moagem adequada deve produzir pequenas partículas, para

que a absorção de água seja satisfatória, também deve gerar uma quantidade mínima de farinha que não comprometa o processo de filtração. É importante que a casca do malte seja preservada, para ser utilizada como uma camada filtrante (ARAÚJO, 2016).

2.2.2 Mosturação

Na mosturação ocorre a junção do malte com a água e nesse processo é necessário um rigoroso controle da temperatura em função da atividade enzimática oriunda do malte. Essa etapa tem como objetivo solubilizar as substâncias presentes no malte para realização da hidrólise do amido em açúcares (VENTURINI FILHO, 2010).

Em processos de pequena escala a mosturação geralmente é realizada por infusão tradicional, onde a mistura deve permanecer entre 62-65°C em um intervalo de tempo de 20 a 60 minutos. Após esse período, é iniciado o escoamento do mosto com uma aspersão de água quente (75-78°C) por cima da mistura. A aspersão da água combinada com a ação da gravidade, auxiliam na passagem do mosto através da camada filtrante (VENTURINI FILHO, 2010).

2.2.3 Filtração

O processo de filtração da cerveja tem por objetivo a remoção dos sólidos insolúveis no mosto líquido formado, a fim de obter um mosto clarificado e uma boa recuperação do extrato (BOTELHO, 2009). A filtração da suspensão líquida ocorre através do auxílio de um leito poroso e nele, o sólido fica retido sobre o meio filtrante formando o que se chama de torta e o líquido que atravessa o leito é denominado filtrado (BREANCINI, 2018).

2.2.4 Fervura

A fervura ocorre após a filtração e através da adição do lúpulo nessa etapa, ocorrem diversas reações. Essa adição pode ocorrer em duas fases, uma no início da fervura, onde produzirá o amargor da cerveja, e uma ao final, com objetivo da

formação de aromas pela liberação de compostos voláteis, que se formam em decorrência de óleos essenciais presentes no lúpulo. Além disso, na fervura ocorre a coagulação das proteínas ao reagirem com os taninos presentes no mosto, esses coágulos se precipitam em forma de flocos (JUNIOR, *et al.*, 2009).

2.2.5 Resfriamento

Ao final da fervura, o mosto deve ser resfriado até a temperatura propícia para a fermentação (10°C), esse processo deve ser realizado rapidamente para que as bactérias contaminantes sejam inibidas, não ocorra oxidação do mosto e também para cessar a produção dos compostos sulfurados que se desenvolvem no mosto e resultam em sabores indesejados no produto final (JUNIOR, *et al.*, 2009; PALMER, 2006).

2.2.6 Fermentação

A fermentação é a etapa onde ocorre a conversão dos açúcares do mosto em etanol e gás carbônico pela ação da levedura. Nesse período também ocorre a formação de subprodutos como ésteres e álcoois superiores, os quais exercem efeito no sabor da cerveja. Esse processo pode durar até 10 dias em decorrência da temperatura utilizada (6 a 15°C), variando conforme o tipo de cerveja a ser produzida (alta ou baixa fermentação) (CARVALHO, 2009; JUNIOR, *et al.*, 2009).

2.2.7 Maturação

Ao final da fermentação, a cerveja necessita passar pela etapa de maturação a fim de refinar algumas características desenvolvidas na fermentação, como por exemplo a alta turbidez, baixa concentração de dióxido de carbono, aroma e sabor. Esse processo ocorre em temperaturas baixas, entre 0 e 3°C e o tempo varia de semanas até meses, dependendo do tipo de cerveja a ser produzida (BARBOSA, 2017; VENTURINI FILHO, 2010).

Um composto importante na maturação é o diacetil, subproduto formado na fermentação principal. Capaz de proporcionar à cerveja um sabor amanteigado e

desagradável, a produção do diacetil pode ser reduzida durante o processo de maturação (VENTURINI FILHO, 2010).

2.3 Clarificação do mosto

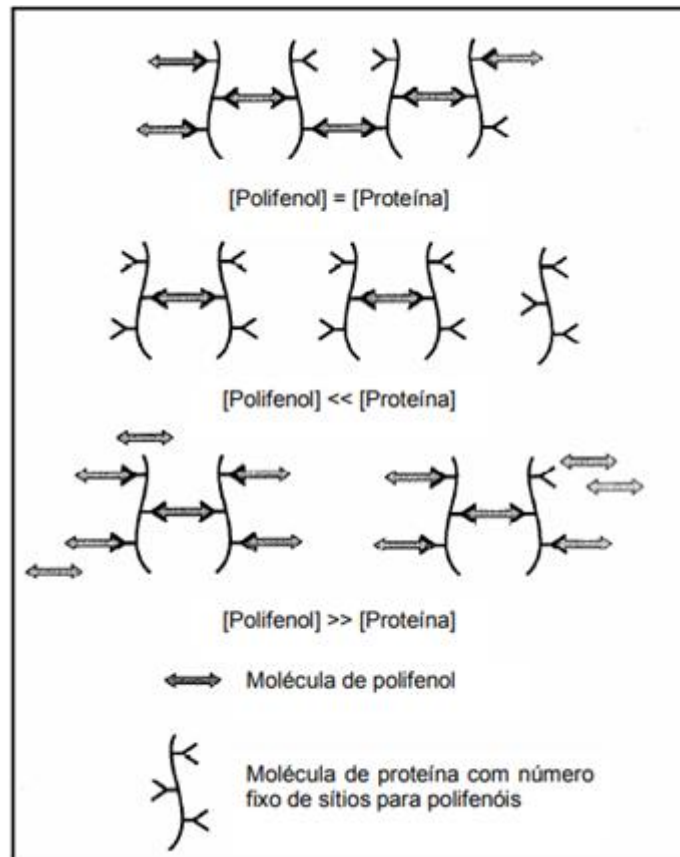
A claridade na cerveja é uma característica desejada pelos consumidores, sobretudo aqueles que apreciam os estilos lager e pilsen. É considerada clara uma cerveja quando visualmente não apresentar características semelhantes a uma névoa, ou seja, que não apresentem turbidez elevada. Essa névoa é consequência da presença de proteínas e polifenóis em suspensão, pois a cerveja é um produto coloidal instável, ou seja, produz sedimentos ou precipitados. Existem estratégias para evitar o desenvolvimento desses sedimentos que envolvem a remoção de proteínas e polifenóis, entre elas está a utilização de agentes clarificantes (MITCHELL, 2005; MASTANJEVIĆ, K.; *et al.*, 2018).

A importância da clarificação do mosto cervejeiro se dá pela necessidade de um produto final límpido e brilhante. A cerveja após a maturação apresenta compostos insolúveis como resíduos de lúpulo, coágulos formados pela reação das proteínas com polifenóis, entre outras partículas, as quais interferem na característica final desejada (VENTURINI FILHO, 2010).

A turbidez na cerveja corresponde ao teor de material em suspensão e existem três grandes grupos de polímeros presentes que compõem a turbidez, sendo eles: polifenóis, polissacarídeos e polipeptídios. Dentre eles, são encontrados principalmente os complexos entre proteínas e taninos. A remoção da turbidez pode ser realizada de diversas maneiras, uma delas é a técnica de estabilização para a remoção dos taninos e proteínas. Essa metodologia envolve a adição de compostos que irão adsorver as partículas em suspensão, facilitando a sua remoção e consequentemente clarificando a cerveja (ESSLINGER, 2009).

Siebert, Carrasco, Lynn (1996) apresentaram em seu trabalho a caracterização das interações entre proteínas e polifenóis. Através da figura 2, podemos observar que a molécula de proteína apresenta locais específicos onde os polifenóis podem se ligar. Quando a quantidade de locais específicos de proteína corresponde ao número de polifenóis, é possível que a clarificação da solução seja mais eficiente, pois são formados coágulos maiores, facilitando a sedimentação (SIEBERT, K. J.; TROUKHANOVA, N. V.; LYNN, P. Y.; 1996).

Figura 2- Concepção do mecanismo de interação polifenol-proteína



Fonte: Siebert, Troukhanova, Lynn (1996, p. 81).

Processos de estabilização coloidal vem sendo aplicados a fim de aumentar a vida de prateleira das cervejas, além da melhora no aspecto visual. Os agentes de estabilização têm como objetivo remover a névoa presente na cerveja por precipitação ou filtração das partículas e devem ser usados respeitando a especificidade de suas reações químicas, a fim de não perder componentes de interesse na cerveja. (MASTANJEVIĆ, K.; *et al.*, 2018). Os agentes comerciais mais utilizados são a carragena, sílica gel, polivinilpolipirrolidona (PVPP) e a gelatina.

2.3.1 Carragena

As carragenas estão presentes na estrutura celular de algas, são polissacarídeos naturais e atuam como emulsificante, geleificante e estabilizante. Uma de suas características relevantes é a sua afinidade com proteínas, onde as cargas positivas da proteína interagem com as cargas negativas presentes na carragena (ADITIVOS & INGREDIENTES, 2015).

Muito usada como estabilizante coloidal em cervejas, o contato entre o líquido e a goma carragena propicia ligações de hidrogênio entre taninos, carragena e proteínas. De maneira prática, é adicionada ao final da fervura gerando uma boa clarificação do mosto e reduzindo a quantidade de névoa no produto final (MASTANJEVIĆ, K.; *et al.*, 2018)

2.3.2. Sílica gel

A sílica gel é um tipo amorfo sintético, proveniente da reação de sílica precipitada (SiO_2) e apresenta uma estrutura porosa. Um de seus principais usos fundamenta-se na adsorção seletiva, podendo ser aplicada como agente estabilizante em cervejas, onde sua estrutura porosa liga-se às proteínas responsáveis pela formação da turbidez (GOMES, L. S.; FURTADO, A. C. R.; SOUZA, M.C., 2018; MASTANJEVIĆ, K.; *et al.*, 2018)

2.3.3 Gelatina

Gelatina é um polímero solúvel em água e na indústria de alimentos tem diversas aplicações, como por exemplo aumentar a elasticidade, consistência e estabilidade física dos alimentos. Na indústria de bebidas, é utilizada como clarificante em cerveja, vinhos e suco de frutas (EMBRAPA, 2012).

Adicionada ao final da fervura durante a produção de cerveja, a gelatina apresenta um comportamento favorável em relação a remoção de turbidez por formar complexos com proteínas. As soluções de gelatina possuem uma carga elétrica positiva e essas células carregadas interagem com a levedura, neutralizando-as e eliminando as forças repulsivas, unindo as células e assim formando coágulos, também chamados de flocos. Esses flocos sedimentam de modo mais rápido do que ocorreria sem o auxílio da gelatina (OLIVER, 2020; SIEBERT, K. J.; LYNN, P.Y, 2018).

2.3.4 Polivinilpirrolidona (PVPP)

Utilizada como clarificante em cervejas, a polivinilpirrolidona (PVPP) é um composto sintético insolúvel que possui aplicabilidade de adsorção de polifenóis

específicos em cerveja. Sua utilização também previne a oxidação de flavonóides capazes de trazer alterações no sabor da cerveja. A reação da desse composto consiste na formação de pontes de hidrogênio entre o grupo carbonila e o grupo fenólico, produzindo a adsorção dos polifenóis (DOMINGUES, 2019).

Um adsorvente de grande peso molecular, o PVPP reage ligando-se à mesma parte da molécula de polifenol à qual os polipeptídeos interagem. Pode auxiliar removendo significativamente compostos como: prodelfinina B3, procianidina B3, catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina e proantocianidinas (MASTANJEVIĆ, K.; *et al.*, 2018).

2.3.5 Amidos modificados

Na UTFPR se tem realizado pesquisas na utilização de amidos modificados como clarificantes de fervura no processo de fabricação de cerveja cujos principais resultados são descritos a seguir.

Amidos de milho e de batata foram modificados oxidação com hipoclorito de sódio e fosfatos com tripolifosfato de sódio. A resultados mostram que os amidos fosfatados apresentaram efeito clarificante na cerveja ale comparáveis com à carragena (OLIVEIRA, 2015).

Gonçalves (2018) obteve a partir de amidos, dextrinas esterificadas com ácido málico. As dextrinas de batata foram mais eficientes que as dextrinas de milho e mandioca na clarificação da cerveja ale e o poder clarificante foi semelhante à carragena.

Arita (2019) ao avaliar dextrinas de amidos de batata, milho e mandioca esterificadas com ácido cítrico, observou que a dextrina de batata foi a que apresentou poder de clarificante próxima à carragena.

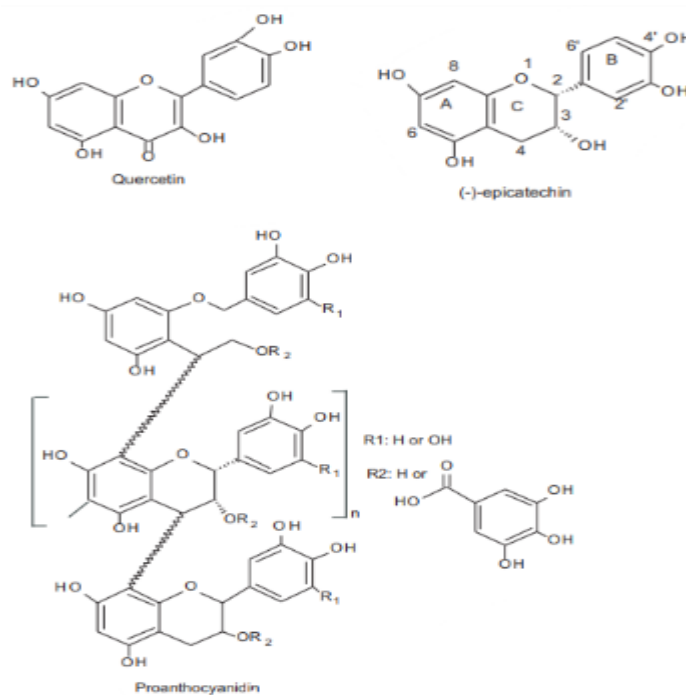
2.4 Bagaço de uva

O bagaço de uva é um resíduo gerado pela indústria vinícola e o seu reaproveitamento merece uma atenção especial, por ser rico em compostos fenólicos que podem ser aplicados em outros processos. Composto pela semente, casca e engaço da uva, o bagaço possui em sua composição aproximadamente 7% de compostos fenólicos. O extrato obtido do bagaço de uva possui uma alta

quantidade de flavonóides, grupo o qual deriva os flavonóis e as antocianinas (CAMPOS, 2005; MATEI, 2015).

Dentro do complexo grupo dos flavonóis, também chamados de taninos, estão presentes os monômeros catequinas e epicatequinas e seus oligômeros proantocianidinas, apresentados na figura 3. As proantocianidinas, mediante a ação da temperatura, transformam-se em antocianidinas em função da ruptura das suas ligações entre as unidades monoméricas. Os taninos podem ser considerados substâncias capazes de reagir vigorosamente com as proteínas. (ÇETIN, A.; SAĞDIÇ, O.; 2009; GUERRA, 2012).

Figura 3 - Estrutura química dos principais flavanóis existentes na uva



Fonte: (ÇETIN, A.; SAĞDIÇ, O.; 2009, p. 371).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

O bagaço de uva Isabel foi adquirido em uma loja de produtos naturais, localizada na cidade de Campo Mourão. Os insumos para a produção da cerveja ALE utilizados foram: malte pilsen agrária (4,75 kg) e malte caramelo (0,250 kg); levedura de alta fermentação, cepa *Saccharomyces cerevisiae* (SafaleÒ US 05, Ale), sendo um envelope de 11,5 g, lúpulo Magnum (12,5% de alfa ácidos, 35 gramas) e lúpulo citra (13% de alfa ácidos, 25g) comprados em uma loja especializada em insumos cervejeiros, localizada em Toledo – PR.

Os clarificantes: o clarificante de fervura, amido de batata esterificado com ácido cítrico foi produzido no Laboratório de Tecnologia de Amidos e Cereais presentes na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus de Campo Mourão. Os clarificantes comerciais pós-fermentação, polivinilpolipirrolidona (PVPP) pura, de elevado peso molecular (marca comercial Poligel Plus); e a gelatina em pó incolor (marca comercial Dr Oetker), foram obtidos respectivamente, de fornecedor de ingredientes para cerveja e em mercado da cidade de Campo Mourão.

Todos os reagentes usados foram de pureza analítica: etanol 96% (v/v); ácido gálico 99,8%; reagente Folin-Ciocalteu; carbonato de sódio (Na_2CO_3); albumina soro bovina, reagente Bradford e ácido láctico 85%.

3.2 Procedimentos

3.2.1 Obtenção e secagem do extrato de bagaço de uva Isabel

Para obtenção do extrato foram pesados 30 g de bagaço de uva Isabel, diluídos em 250 mL de etanol (96%) e depositados em frascos de vidro com tampa. Em seguida, os frascos foram colocados em forno microondas e aquecidos em potência máxima (100%) até iniciar a fervura. Após a fervura, seguiu o aquecimento por quatro minutos em potência reduzida (20%). Com os frascos resfriados, o líquido é filtrado e armazenado. A borra presente no filtro foi recuperada e posta novamente no frasco com mais 250 mL de etanol (96%). O processo descrito foi executado por

mais uma vez a fim de uma melhor extração. O extrato foi concentrado em rotaevaporador (56°, -620 mm Hg) até um volume final de 30 mL.

Para a secagem do extrato, 23 mL do extrato etanólico foram misturados com 20 gramas de amido de mandioca formando uma espécie de pasta. Essa pasta foi submetida a secagem em estufa a 50°C com circulação forçada de ar por um período de 12 horas.

O extrato seco apresentou concentração de 1,90% (m/m) de proantocianidinas (método item 3.2.2).

3.2.2 Quantificação das proantocianidinas do extrato seco de bagaço de uva isabel

Amostras de 250 mg foram acrescentados 25 mL de etanol 96% em um frasco de vidro com tampa, levado ao microondas e aquecido até fervura em potência máxima (100%). Após a fervura, a amostra foi aquecida por mais 4 minutos na potência de 20%. Com os frascos resfriados, o líquido foi resfriado e filtrado.

O teor das proantocianidinas foi determinado pelo método da vanilina de acordo com a metodologia de Sun, Silva e Spranger (1998). Em cubetas para análise espectrofotométrica foram depositados 600 µL de cada extrato, 1500 µL de solução de vanilina a 1% (m/v) em metanol e 1500 µL solução de ácido sulfúrico a 25% em metanol. Em seguida, as cubetas foram postas em banho de água a 30°C por um período de 15 minutos e a seguir foram realizadas as leituras das absorbâncias a 500 nm.

Os teores de proantocianidinas foram determinados por interpolação das absorbâncias das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de catequina e expressos em miligramas de equivalente de catequina por litro (mg EC/L).

3.2.3 Produção da cerveja ALE e aplicação dos clarificantes

A elaboração da cerveja seguiu procedimento de domínio público no âmbito cervejeiro. No processamento foi utilizada uma panela cervejeira com aquecimento elétrico e controle da temperatura.

Cinco quilos de malte moído (4,75 kg malte pilsen e 0,250 kg malte caramelo 40-60 EBS de cor) foram misturados com 20 litros de água sem cloro, sendo o pH

regulado para 5,2 com ácido láctico 85%. A seguir a temperatura foi aumentada lentamente (aprox.1,5°C/min) para 64-65°C e mantida nessa temperatura por 60 minutos, e na sequência a temperatura regulada em 70-71°C por tempo de 30 minutos. Finalmente, a temperatura foi aumentada para 78°C e mantida por 10 minutos para a inativação das enzimas amilases.

O mosto primário foi recuperado por filtração na própria panela cervejeira e o resíduo sólido foi lavado com água (sem cloro, pH 4,0) até que a líquido filtrado (mosto secundário) atingiu 5% de sólidos solúveis (°Brix).

Os mostos primários e secundários foram misturados e fervidos por 20 minutos para a desnaturação das proteínas e retirada da espuma. Foram adicionados 35 gramas de lúpulo Magnum (12,5% alfa-ácidos), e aos 45 minutos de fervura foram adicionados 12,5 gramas de amido de batata esterificado com ácido cítrico (0,5 g/L), um novo clarificante de fervura desenvolvido na UTFPR. Ao completar 60 minutos de fervura com o lúpulo, o aquecimento foi desligado e se adicionaram 25 gramas de lúpulo citra (13% de alfa ácidos) para conferir aroma e sabor. Na sequência foi feito o turbilhonamento, deixado em repouso por 60 minutos para a sedimentação dos sólidos. O mosto foi recuperado, resfriado ao passar em trocador de calor (serpentina) resfriado com gelo e transferido para o fermentador.

O mosto resfriado (18°C) com teor de sólidos solúveis de 12% recebeu 11,5 gramas de levedura *Saccharomyces cerevisiae* (SafaleÒ US 05, Ale) sendo transferido para um fermentador e colocado em geladeira regulada a 18°C. A fermentação foi considerada concluída no 7º dia (estabilização do teor de sólidos solúveis). O mosto fermentado foi mantido nessa temperatura por mais 3 dias, para a redução do diacetil, e posteriormente a temperatura foi regulada a 2°C por 5 dias para sedimentação da levedura.

Após o período de 5 dias, a cerveja foi transferida para garrafas de 210 mL em duplicata, onde foram adicionados os clarificantes comerciais, previamente preparados segundo as instruções fornecidas pelo fabricante, e o extrato seco de bagaço de uva (BU). Neste dia da transferência foi considerado o tempo inicial (tempo zero) da maturação à frio.

As concentrações de proantocianidinas foram de 5 ppm e 10 ppm, equivalentes a 55 e 110 mg de extrato seco de bagaço de uva (BU), os quais foram dispersos em 5 mL da cerveja preparada.

A gelatina foi dissolvida (47 mg; equivalente a 224 mg/L) em 3 mL de água destilada, seguida de aquecimento a 65°C em banho termostaticado por um período de 10 minutos.

A polivinilpirrolidona (PVPP, dosagem equivalente a 319 mg/L) foi hidratada ao dispersar 67 mg em 10 mL de água destilada seguida de repouso por 30 minutos em temperatura ambiente, conforme recomendação do fabricante.

Todos os clarificantes foram adicionados às garrafas de 210 mL em duplicata e mantidos em uma câmara a temperatura controlada de 2°C por 10 dias.

3.2.4 Avaliação da clarificação da cerveja

A estabilidade físico-química da cerveja, também chamada de coloidal, é avaliada pela ausência ou pelo desenvolvimento de turvação a frio, a ausência indica boa estabilidade coloidal. Para avaliar o comportamento do extrato e dos clarificantes comerciais na clarificação da cerveja, quatro análises diretamente relacionadas à turbidez foram realizadas a fim de determinar: análise do teor de compostos fenólicos, determinação da concentração de proteínas, claridade e turbidez.

3.2.4.1 Quantificação das proteínas

As proteínas foram quantificadas através do método de Bradford, uma técnica para a determinação de proteínas totais que utiliza o reagente de Bradford formando um complexo entre o corante brilhante Blue G e as proteínas em solução. As amostras adicionadas do reagente foram analisadas através da leitura espectrofotométrica a 595 nm. Após a leitura, o teor de proteínas foi determinado por interpolação das absorbâncias das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões com padrões de albumina bovina (PEDROL, 2001).

3.2.4.2 Quantificação dos compostos fenólicos totais

O teor dos compostos fenólicos totais foi realizado através da metodologia de Singleton e Rossi (1965), fundamentada no método desenvolvido por

Folin-Ciocalteu. A análise consiste em pipetar 100 μL de amostra, 1700 μL de água destilada e 250 μL de Folin-Ciocalteu em uma cubeta para análise espectrofotométrica. Após 3 minutos de repouso, adiciona-se 1500 μL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3). As cubetas devem ser incubadas ao abrigo da luz por 30 minutos a temperatura de 37°C.

Posteriormente, a absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotómetro previamente calibrado com o branco. Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação das absorbâncias das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

3.2.4.3 Determinação da claridade

Para a determinação da claridade a metodologia empregada foi descrita por Dale, Tran e Lyddiatt (1995) com análise espectrofotométrica. Alíquotas da região superficial de cada um dos mostos foram coletadas, a fim de se determinar a claridade, através da medição da absorbância no comprimento de onda de 600 nm a 20°C previamente calibrado com o branco, que nesse caso foi utilizado água destilada. Os resultados foram expressos através da média das absorbâncias e desvio padrão.

3.2.4.4 Determinação da turbidez

Para a determinação da turbidez, 10 mL de cada cerveja verde (20°C) foram analisados pelo uso do turbidímetro do modelo TB-1000 da MS Tecnocon. 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 pelas substâncias dispersas não solúveis no líquido. O resultado foi expresso em NTU (Nephelometric Turbidity Unit) e posteriormente convertido em EBC (European Brewery Convention) ao dividir NTU por 4.

3.2.5 Análise estatística

Através dos dados obtidos pela determinação de compostos fenólicos totais, proteínas, absorvância e turbidez, foi realizada uma análise estatística com o auxílio do software Bioestat. Neste, foi realizada a análise de variância (ANOVA) para comparação das médias dos tratamentos e posteriormente aplicado o teste de Tukey, obtendo as diferenças significativas a um nível de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da clarificação

Para avaliar o potencial clarificante do bagaço de uva e compará-lo com clarificantes comerciais, foram realizadas análises de proteínas, compostos fenólicos, turbidez e claridade pela absorbância a 600 nm em três fases da maturação. As amostras foram coletadas no ponto zero (início da maturação), após 5 dias e após 10 dias de maturação. Cada amostra foi retirada de duas garrafas e estas, realizadas em triplicata.

Foram preparadas cinco amostras de cerveja elaboradas com adição de um mesmo clarificante na etapa de fervura (amido de batata esterificado), porém que se diferenciam pelo tipo de clarificante adicionado na etapa de maturação, com três outros clarificantes como demonstrado na tabela 1.

Tabela 1- Cervejas elaboradas com amido batata esterificado como clarificante de fervura e diferentes clarificantes na etapa de maturação.

Cerveja	Clarificante de fervura	Clarificante de maturação
Controle	Amido esterificado	----
Gelatina	Amido esterificado	Gelatina, 224 mg/L
PVPP*	Amido esterificado	PVPP, 319 mg/L
BU** 5 ppm	Amido esterificado	Extrato de bagaço de uva, 5 mg PA***/L
BU** 10 ppm	Amido esterificado	Extrato de bagaço de uva, 10 mg PA/L

*PVPP: polivinilpolipirrolidona; **BU: extrato seco de bagaço de uva; ***PA: proantocianidinas;

Fonte: Autoria própria (2022).

A amostra controle representa a cerveja na qual foi adicionado o clarificante de fervura (amido de batata esterificado com ácido cítrico) e não recebeu qualquer clarificante na maturação a frio.

4.1.1 Determinação das proteínas

A cerveja possui proteínas oriundas do malte que são essenciais no processo fermentativo, servindo de alimento para as leveduras, como por exemplo.

Entretanto, o excesso de proteínas na cerveja é um fenômeno indesejável, pois quanto maior a quantidade de proteínas em suspensão, há um aumento na turvação. A necessidade de pequenos teores proteicos também está ligada à estabilidade da espuma e a facilitação no processo de filtração (OLIVEIRA, 2015).

A tabela 2 apresenta as médias das concentrações de proteínas referentes à amostra controle, os clarificantes comerciais: gelatina e polivinilpolipirrolidona (PVPP) e o extrato do bagaço de uva em duas concentrações (BU 5 ppm e BU 10 ppm). Através desses dados, realizou-se uma avaliação estatística para comparação utilizando o teste de Tukey ao nível variância de 5%.

Tabela 2-Teor de proteínas (mg/L) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10)

Cerveja	MI	M5	M10
Controle	706,56±5,34 ^{a*}	540,99±3,43 ^{bA}	456,42±6,09 ^{cA}
Gelatina	706,56±5,34 ^{a**}	730,90±13,90 ^{aB}	644,47±7,91 ^{bB}
PVPP	706,56±5,34 ^{a**}	712,87±11,58 ^{aB}	621,46±5,25 ^{bB}
BU 5 ppm	706,56±5,34 ^{a**}	707,63±4,17 ^{aB}	726,14±9,82 ^{aB}
BU 10 ppm	706,56±5,34 ^{a**}	729,25±26,42 ^{aB}	671,50±10,25 ^{aB}

*Valores apresentam a média ± desvio padrão; letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey); letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey);

**No início da maturação as cervejas-tratamentos não continham o clarificante, sendo igual a amostra controle.

Fonte: Autoria própria (2022).

Analisando o desempenho de cada clarificante durante o período de maturação, a amostra controle (sem adição de clarificante na maturação) que no início da maturação mostrou teor proteico de 706,56 mg.L⁻¹ teve diminuição significativa ($p < 0,05$) desse parâmetro no quinto dias e continuou diminuindo no décimo dia atingindo valor de 456,42 mg.L⁻¹. As amostras de cerveja contendo gelatina e polivinilpolipirrolidona (PVPP) tiveram diminuições significativas ($p < 0,05$) no décimo dia, respectivamente, para 644,47 e 621,46 mg.L⁻¹. Na amostra de cerveja com extrato seco de bagaço de uva (BU 10 ppm), no décimo dia, apesar de

numéricamente apresentar menor teor, em relação ao início da maturação, a diminuição não foi estatisticamente significativa.

O tratamento contendo bagaço de uva na concentração de 5 ppm apresentou concentração superior no décimo dia de maturação comparado ao quinto dia, esse fato pode ser um indicador de falhas laboratoriais.

Ao final da maturação a cerveja com menor teor de proteína foi a controle (456,42 mg.L⁻¹) seguidas da cerveja com PVPP (621,46 mg.L⁻¹) e gelatina (644,47 mg.L⁻¹). A associação de um clarificante de fervura com clarificantes de maturação como a gelatina, que tem a capacidade de retirar proteínas (OLIVER, 2020; SIEBERT; LYNN, 2018), e a PVPP que elimina proteínas complexadas com polifenóis (MASTANJEVIĆ, K.; *et al.*, 2018), deveria de ter produzido efeito maior na diminuição de proteínas em relação ao simples uso do clarificante de fervura, especificamente ao amido de batata esterificado. No entanto, tal fenômeno não foi observado mostrando que o referido amido é efetivo como clarificante de fervura, corroborando o resultado de Rodrigues (2021) que usou o mesmo amido na clarificação de cerveja tipo lager.

4.1.2 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

Segundo Angelo e Jorge (2007), os principais compostos fenólicos presentes na cerveja são os flavonóides, e através da variação de um de seus anéis aromáticos encontram-se os flavonóis, antocianinas, os taninos (lignanas) polifenóis hidrolisáveis, como as proantocianidinas, e também os ácidos fenólicos, como por exemplo o ácido gálico.

A tabela 3 apresenta as médias das concentrações de compostos fenólicos totais referentes à amostra controle, os clarificantes comerciais: gelatina e polivinilpolipirrolidona (PVPP) e o extrato do bagaço de uva em duas concentrações (BU 5 ppm e BU 10 ppm). Através desses dados, realizou-se uma avaliação estatística para comparação utilizando o teste de Tukey ao nível variância de 5%.

Tabela 3- Teor de compostos fenólicos (mg EAG/L) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10)

Cerveja	MI	M5	M10
Controle	162,36±4,45 ^a	171,36±1,81 ^{aA}	172,63±5,87 ^{aA}
Gelatina	162,36±4,45 ^a	156,57±0,09 ^{aB}	156,62±0,91 ^{aB}
PVPP	162,36±4,45 ^a	151,22±1,68 ^{aB}	153,60±4,05 ^{aB}
BU5(ppm)	162,36±4,45 ^a	148,05±2,19 ^{bB}	146,25±0,74 ^{bBC}
BU10(ppm)	162,36±4,45 ^a	158,90±6,37 ^{aAB}	138,25±3,87 ^{bC}

*Valores apresentam a média ± desvio padrão; letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey); letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey);

**No início da maturação as cervejas-tratamentos não continham o clarificante, sendo igual a amostra controle.

Fonte: Autoria própria (2022).

Através dos resultados obtidos, pode ser analisado o desempenho de cada clarificante durante o período de maturação. A amostra controle, que no início da maturação apresentou um teor de 162,36 mg EAG.L⁻¹ não teve uma diminuição significativa a um nível de 5% ao decorrer do quinto e décimo dia. As amostras contendo gelatina e polivinilpolipirrolidona (PVPP) apresentaram queda quando comparados o início e o décimo dia de maturação, porém também não foram significativas (p<0,05).

Os tratamentos contendo bagaço de uva (BU 5 ppm e BU 10 ppm) apresentaram queda na concentração de compostos fenólicos, resultando em 146,25 mg EAG.L⁻¹ e 138,25 mg EAG.L⁻¹, representando uma variação significativa (p<0,05) em relação ao início da maturação, onde o teor de compostos fenólicos foi de 162,36 mg EAG.L⁻¹. Isso indica um resultado positivo, uma vez que o objetivo da aplicação desses possíveis clarificantes é o sequestro de compostos em suspensão causadores do aumento da turbidez na cerveja.

Dentre as amostras analisadas, o tratamento BU 10 ppm resultou em uma menor concentração após 10 dias de maturação (138,25 mg EAG.L⁻¹), sendo, neste caso, um potencial clarificante em relação à remoção de compostos fenólicos em suspensão.

4.1.3 Determinação da turbidez

A turbidez na cerveja é formada através de partículas em suspensão de proteínas dissolvidas precipitadas por polifenóis. Existem dois tipos de turbidez, sendo elas: turbidez a frio, a qual aparece quando a cerveja é resfriada (0°C), porém, desaparece ao aquecer até 20°C; e a turbidez permanente, que ocorre devido a um grande período com turbidez a frio, se tornando permanente (ESSLINGER, 2009).

A tabela 4 apresenta as médias das análises de turbidez medidas em EBC (European Brewery Convention), realizadas na temperatura de 20°C referentes à amostra controle, os clarificantes comerciais: gelatina e polivinilpolipirrolidona (PVPP) e o extrato do bagaço de uva em duas concentrações (BU 5 ppm e BU 10 ppm). Através desses dados, realizou-se uma avaliação estatística para comparação utilizando o teste de Tukey ao nível variância de 5%.

Tabela 4- Valor de Turbidez (EBC) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10)

Cerveja	MI	M5	M10
Controle	6,13±0,53 ^a	7,00±0,35 ^{aA}	5,80±0,17 ^{aB}
Gelatina	6,13±0,53 ^a	2,08±0,12 ^{bC}	2,23±0,03 ^{bC}
PVPP	6,13±0,53 ^a	4,77±0,31 ^{aB}	5,75±0,00 ^{aB}
BU5 (ppm)	6,13±0,53 ^a	6,62±0,53 ^{aA}	6,13±0,88 ^{aAB}
BU10 (ppm)	6,13±0,53 ^a	7,71±0,41 ^{aA}	7,75±0,35 ^{aA}

*Valores apresentam a média ± desvio padrão; letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey); letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey);

**No início da maturação as cervejas-tratamentos não continham o clarificante, sendo igual a amostra controle.

Fonte: Autoria própria (2022).

Através dos resultados obtidos, podemos observar um comportamento irregular entre as amostras. O tratamento contendo a cerveja controle apresentou diferença significativa após 5 dias de maturação (M5) entre os tratamentos contendo gelatina e polivinilpolipirrolidona (PVPP). Quando comparado com as amostras BU 5

ppm e BU 10 ppm, não apresentou diferença entre elas, no entanto, a amostra BU 5 teve desempenho similar a amostra controle.

Após 10 dias de maturação (M10), o tratamento controle apresentou variação significativa entre a gelatina e a amostra BU 10 ppm, e a um nível de 5% não demonstrou diferença entre o tratamento polivinilpirrolidona (PVPP) e BU 5 ppm. Além disso, as amostras BU 5 ppm e BU 10 ppm não apresentaram diferença significativa entre si após 10 dias.

De uma maneira geral, os dados obtidos demonstram uma dispersão das partículas em suspensão ao longo dos dias, com exceção da amostra contendo gelatina, a qual apresentou menor média de turbidez em ambas análises (2,08 EBC e 2,23 EBC), sendo assim, pode-se considerar o melhor tratamento para remoção de turbidez.

4.1.4 Determinação da claridade

A tabela 5 apresenta as médias das leituras espectrofotométricas da claridade a 600 nm realizadas na temperatura de 20°C, referentes à amostra controle, os clarificantes comerciais: gelatina e polivinilpirrolidona (PVPP) e o extrato do bagaço de uva em duas concentrações (BU 5 ppm e BU 10 ppm). Através desses dados, realizou-se uma avaliação estatística para comparação utilizando o teste de Tukey ao nível variância de 5%.

Tabela 5- Valor de Absorbância (600nm) do mosto inicial (MI), mosto após 5 dias (M5), mosto após 10 dias de maturação (M10)

Cerveja	MI	M5	M10
Controle	0,80±0,005 ^a	0,096±0,006 ^{bA}	0,0793±0,012 ^{bAB}
Gelatina	0,80±0,005 ^a	0,079±0,001 ^{bBC}	0,056±0,004 ^{cB}
PVPP	0,80±0,005 ^a	0,079±0,002 ^{bBC}	0,087±0,013 ^{bAB}
BU5 (ppm)	0,80±0,005 ^a	0,100±0,002 ^{bA}	0,099±0,010 ^{bA}
BU10 (ppm)	0,80±0,005 ^a	0,085±0,002 ^{bAC}	0,094±0,003 ^{bA}

*Valores apresentam a média ± desvio padrão; letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey); letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey);

**No início da maturação as cervejas-tratamentos não continham o clarificante, sendo igual a amostra controle.

Fonte: Autoria própria (2022).

Ao analisar os resultados obtidos, de uma maneira geral, é possível observar que todos os tratamentos, incluindo o controle, apresentaram uma diminuição da absorbância em relação ao início da maturação (MI) indicando que houve processo de clarificação. No quinto dia da maturação as amostras com gelatina, polivinilpirrolidona (PVPP) e BU 10 ppm foram similares ($p > 0,05$), porém mais claras que a mostra controle.

Após 10 dias de maturação (M10), os tratamentos BU 5 ppm e BU 10 ppm, não exibiram diferença entre si, é também não se diferenciam dos tratamentos PVPP e controle.

Dentre todos os tratamentos, a amostra de gelatina apresentou o menor resultado na leitura realizada após 10 dias de maturação (0,056), possuindo neste caso, o melhor efeito clarificante.

4.1.5 Avaliação global do desempenho dos clarificantes

A cerveja controle foi elaborada usando unicamente um clarificante de fervura, o amido de batata esterificado (ABE), enquanto que as outras cervejas além do ABE aplicado na fervura foram usados dois reconhecidos clarificante de

maturação, a gelatina, de reconhecida capacidade de retirar proteínas e células de leveduras; a polivinilpirrolidona (PVPP) com habilidade de retirar compostos fenólicos. Os extratos de bagaços de uva nas concentrações de 5 e 10 ppm de proantocianidinas (PA) foram usados como potenciais clarificantes de maturação da capacidade das PA de formar complexos com as proteínas, provocando a sedimentação. No entanto, ao final da maturação o teor de proteínas na cerveja controle foi menor que nas outras quatro cervejas, indicando que os clarificantes gelatina, PVPP e BU não contribuíram com diminuição das proteínas, um dos precursores da turbidez a frio em cerveja.

O extrato de bagaço de uva nas concentrações de 5 e 10 ppm de proantocianidinas mostraram efeito “removedor” de compostos fenólicos totais (outro precursor de turbidez) ao final da maturação da cerveja sendo semelhante ao da gelatina e PVPP (reconhecido pela capacidade de remover compostos fenólicos). No entanto, esse efeito não se manifestou na diminuição da turbidez e aumento da claridade (diminuição da absorvância a 600 nm) em relação a cerveja controle. Porém vale a pena mencionar que o potencial clarificante (parâmetros turbidez e claridade) do BU (5 e 10) é similar à PVPP.

Estudo de Inforth *et al.* (2015) relata a capacidade clarificante de extratos de resíduos de lúpulo Galena, que foi atribuída às proantocianidinas (PA). Quando adicionado na maturação aumentaram a claridade (diminuição da absorvância a 600 nm) e diminuíram a turbidez da cerveja não filtrada. No presente trabalho, para o extrato de bagaço de uva não foi observada essa capacidade. Porém, deve ser considerado que o grau de polimerização de PA influencia na propriedade de formar complexos com proteínas. As PA de elevada massa molecular, geralmente, apresentam maior número de sítios ativos, hidrofílicos (-OH) e hidrofóbicos (anel benzênico) para a interagir multi-funcionalmente com mais de um sítio de outra macromolécula (LE BOURVELLEC; RENARD, 2019). O grau de polimerização (GP) das PA em extratos comerciais de resíduos de uva varia de 6,9 a 9,2 (Xu, *et al.*, 2021) nos lúpulos o GP varia de 5,4 a 22,2 dos lúpulos (LI; DEINZER, 2009).

Os indicadores mais importantes para atestar a claridade da cerveja são determinação de absorvância a 600 nm (parâmetro claridade) e a turbidez. Baseado nesses dois indicadores a cerveja controle, usando unicamente clarificante de fervura, foi bastante clara (5,8 EBC, Abs=0,0793). A adição na etapa da maturação, a gelatina mostrou capacidade de clarificação periférica, e, a PVPP e os BU não

melhoraram nem prejudicaram a claridade. Esses dados permitem levantar a hipótese que o clarificante de fervura, amido de batata esterificado, teve bom desempenho na fervura e continuou a agir na maturação, o que poderia explicar a boa claridade da cerveja controle.

5 CONCLUSÃO

O trabalho teve a finalidade de aplicar extrato de bagaço de uva como clarificador pós-fermentador, em duas concentrações de proantocianidinas (PA, 5 e 10 ppm), em cerveja elaborada com o uso de clarificado de fervura, devido que nas microcervejarias é usual a aplicação de clarificados de fervura e pós-fermentação (maturação). Baseado nos resultados pode-se concluir:

- O extrato de bagaço de uva (BU) nas concentrações de 5 e 10 miligramas de proantocianidinas por litro de cerveja apresentaram efeito de diminuição dos compostos fenólicos em relação à cerveja controle que não continha clarificador pós-fermentação (maturação).
- O efeito de diminuição dos compostos fenólicos dos BU, precursores da turbidez, não se manifestou em diminuição da turbidez e da claridade (diminuição de absorbância em 600 nm) em relação à cerveja controle.
- Quanto aos indicadores de turbidez e claridade (600 nm) o BU foi inferior à gelatina e similar à PVPP.
- O efeito clarificador do amido de batata de fervura, adicionado ao final da fervura do mosto foi eficaz, uma vez que produziu cerveja controle de claridade similar à gelatina. No entanto, como o BU não prejudicou esse parâmetro, apresentando resultados semelhantes ao PVPP, pode ser usado para aumentar a estabilidade da cerveja contra a oxidação.

REFERÊNCIAS

- ADITIVOS & INGREDIENTES. As grandes gomas. **Insumos**, n. 116, p. 25-38, 2015.
- ÂNGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 1-9, 2007.
- ARAÚJO, G.S. **Elaboração de uma cerveja ale utilizando melão de caroá [sicana odorífera (vell) naudim] como adjunto do malte**. 2016. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
- ARITA, D. H. **Amidos oxidados e modificados com ácido cítrico: obtenção e aplicação como agentes clarificadores do mosto cervejeiro**. 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2019
- BARBOSA, S. J.; *et al.* Cerveja artesanal de alta fermentação adicionada de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*). **Tópicos em Ciências e Tecnologia de Alimentos: Resultados de Pesquisas Acadêmicas**. v.3. p. 259 -278, Editora Blucher, 2017.
- BENDER, A.B.B. **Micronização como alternativa para valorização do bagaço de uva: caracterização e aplicação em *snack* extrusado**. 2020. 130 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2020.
- BOTELHO, B.G. **Perfil e Teores de Aminas Bioativas e Características Físico-Químicas em Cervejas**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas, Minas Gerais, 2009.
- BRASIL. MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 65, 10 de dezembro de 2019**. Diário Oficial da União, Brasília 11/12/2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: 16 mar. 2022.
- BREANCINI, G. **Filtração da cerveja: descrição, equipamentos e estudos de casos**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.
- BREWERS ASSOCIATION. **Best Practices Guide to Quality Craft Beer: Delivering Optimal Flavor to the Consumer**. Brewers Associations & Shutterstock, v. 1, p. 06-28, 2014.
- BRIGGS, Dennis E.; *et al.* **Brewing: Science and Practice**. Boca Raton, USA: CRC press, 2004.
- CAMPOS, L. M.A.S. **Obtenção de extratos de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera*): parâmetros de processo e modelagem matemática**.

2005. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis 2005.

CARVALHO, G. B. M. D. **Obtenção de cerveja usando banana como adjunto e aromatizante**. 2009. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.

CARVALHO, L. G. Dossiê Técnico. **Produção de cerveja**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, mar. 2007. Disponível em: <http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/NTc/>. Acesso em: 21 mar. 2022.

CARVALHO, G. B. M.; BENTO, C. V.; SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1º parte – As leveduras. **Analytica**, n. 25, p. 36-42, 2006.

ÇETIN, A.; SAĞDIÇ, O. A concise review: antioxidant effects and bioactive constituents of grape. **Erciyes Medical Journal**, v. 31, p. 369-375, 2009.

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**, v. 102, p. 285-289, Great Britain, 1995.

DOMINGUES, S. F. L. **Avaliação da eficácia da utilização de estabilizantes na diminuição da turvação da cerveja**. 2019. Tese (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova Lisboa, Lisboa, 2019.

JUNIOR, D. A. A.; VIEIRA, A. G.; FERREIRA, T. P. Processo de produção de cerveja. **Revista Processos Químicos**, v. 3, n. 6, p. 71, 2009.

ESSLINGER, H. M. **Handbook of brewing: Processes, Technology e Markets**. Weinheim: WILEY-VCH, 2009.

FILHO, M.S.M.S; *et al.* Obtenção e caracterização de gelatina de pele de tilápia. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2012.

FREITAS, A. G. Relevância do mercado cervejeiro brasileiro: avaliação e perspectivas e a busca de uma agenda de regulação. **Pensamento e Realidade**, v. 30, n. 2, p. 12, 2015.

GOMES, L.S.; FURTADO, A. C. R.; SOUZA, M.C. A sílica e suas particularidades. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 4, p. 1018-1038, 2018.

GONÇALVES, H. M. **Obtenção de dextrinas esterificadas e aplicação no processo de clarificação de cerveja**. 2018. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2018.

GUERRA, C. C. Polifenóis da uva e do vinho. **Revista Brasileira de Viticultura e Enologia**, Bento Gonçalves, v. 4, n. 4, p. 90-100, 2012.

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

INFORTH, R.S.T.; WESTWOOD, K.; SOMANI, A.; DOHERTY, N.; COOK, D.J.; Hop proanthocyanidins for the fining of beer. **Journal of The Institute of Brewing**. v.121: p. 490-495, 2015.

JELINEK, L.; KARABIN, M.; KOTILIKOVÁ, B.; HUDCOVÁ, T.; DOSTÁLEK, P. Application of a hop by-product in brewing: reduction in the level of haze-active promines and improved antioxidant properties of the beer. **The Institute of Brewing & Distilling**. v. 120, p. 99-104, 2014.

LE BOURVELLEC, C.; RENARD, M.G.C. Interactions Between Polyphenols and Macromolecules: Effect of Tannin Structure. In: MELTO, L.; SHAHIDI, F.

Encyclopedia of Food Chemistry, v. 2, p. 515-521, Elsevier Science Inc, 2019.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965214868?via%3Dihub>. Acesso em: 31 maio 2022.

LI, H-J.; MAX L. DEINZER, M.L Proanthocyanidins in Hops. IN: PREEDY, V. R. **Beer in Health and Disease Prevention**. p; 333-348, London: Academic Press, 2009.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965214868?via%3Dihub>. Acesso em: 31 maio 2022.

MASTANJEVIĆ, K.; *et al.* Beer–The Importance of Colloidal Stability (Non-Biological Haze). **Fermentation**, v. 4, 2018.

MATEI, Jéssica Crecencio. **Avaliação da atividade antibacteriana de extratos hidroalcoólicos do bagaço de uva e chá preto**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Processos Ambientais) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2015.

MEGA, J. F; NEVES, E; ANDRADE, C. J; A produção de cerveja no Brasil. **Revista Citino**, v. 1, n.1, p. 9, 2011.

MITCHELL. E. A.; *et al.* A comparison of polyvinylpyrrolidone (PVPP), sílica xerogel and polyvinylpyrrolidone (PVP)- sílica co-product for their ability to remove polyphenols from beer. **Journal of The Institute of Brewing**. v. 111, p. 20-25, 2005.

OLIVER, Garrett. **O Guia Oxford da Cerveja: The Oxford Companion to Beer**, v. 1, p. 1056. Editora Blucher, 2020.

OLIVEIRA, M. D. **Aplicação de amido modificado no processo de clarificação de cerveja artesanal**. 2015. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2015.

PALMER, J. J. **How to Brew: Everything you need to know to brew beer right the first time**. 3. ed. Brewers Publications, p.347, 2006.

PEDROL, N. **Handbook of Plant Ecophysiology Techniques**, n.1 January 2001.

RODRIGUES, M. A.; *et al.* **Jornadas de lúpulo e cerveja: novas oportunidades de negócio**. Livro de Atas. Bragança, 2015.

RODRIGUES, M. A. **Avaliação de dextrinas esterificadas com ácido cítrico como clarificadores pós- fermentação da cerveja tipo lager**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2021.

SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analysis of condensed tannins: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, n. 1–2, p. 21–40, 2001.

SIEBERT, K. J.; LYNN, P.Y. Mechanisms of Beer Colloidal Stabilization. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 55, n. 2, 73-78, 2018.

SIEBERT, K. J.; CARRASCO, A.; LYNN, P. Y. Formation of protein-polyphenol haze in beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 44, n.1, p 1997-2005, 1996.

SIEBERT, K. J.; TROUKHANOVA, N. V.; LYNN, P. Y. Nature of polyphenol-protein interactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 44, n.1, p 80-85, 1996.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, S. A. Colorimetric of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology & Viticulture**, v. 16, n.3, p. 144-158, 1965.

SUN, B.; SILVA, R. J. M.; SPRANGER, I. Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4267–4274, 1998.

XU, J.; Dai, T.; CHE, J.; HE, X.; SHUAI, X.; LIU, C.; LI, T. Effects of Three Types of Polymeric Proanthocyanidins on Physicochemical and In Vitro Digestive Properties of Potato Starch. **Foods**, v.10, p. 1394, 2021. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/352472024_Effects_of_Three_Types_of_Polymeric_Proanthocyanidins_on_Physicochemical_and_In_Vitro_Digestive_Properties_of_Potato_Starch. Acesso em 31 maio 2022.

ZIMMERMANN, B. F. **Proanthocyanidins in barley and malt analyzed by pressurized liquid extraction, solid-phase extraction and HPLC**. 2005. 75 p. Dissertação (Doutorado em Matemática e Ciências Naturais) – Faculdade de Matemática e Ciências Naturais, Universidade de Bon, Bon, Alemanha, 2005.