

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

DANIELA HIRATA ARITA

**AMIDOS OXIDADOS E MODIFICADOS COM ÁCIDO CÍTRICO:
OBTENÇÃO E APLICAÇÃO COMO AGENTES CLARIFICADORES DO
MOSTO CERVEJEIRO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CAMPO MOURÃO

2019

DANIELA HIRATA ARITA

**AMIDOS OXIDADOS E MODIFICADOS COM ÁCIDO CÍTRICO:
OBTENÇÃO E APLICAÇÃO COMO AGENTES CLARIFICADORES DO
MOSTO CERVEJEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Manuel S. V. Plata
Oviedo

CAMPO MOURÃO

2019

A714a

Arita, Daniela Hirata

Amidos oxidados e modificados com ácido cítrico: obtenção e aplicação como agentes classificadores do mosto cervejeiro/ Daniela Hirata Arita– 2019.

97 f.: il.; 30 cm.

Texto em português com resumo em inglês

Orientador: Manuel S.V. Plata Oviedo

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Campo Mourão, 2019.

Inclui bibliografias.

1. Ácidos orgânicos. 2. Cerveja. 3. Esterificação. 4. Alimentos – Dissertações. I. Oviedo, Manuel S.V. Plata orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. III. Título.

CDD: 664



TERMO DE APROVAÇÃO

AMIDOS OXIDADOS E MODIFICADOS COM ÁCIDO CÍTRICO: OBTENÇÃO E APLICAÇÃO COMO AGENTES CLARIFICADORES DO MOSTO CERVEJEIRO

Por

DANIELA HIRATA ARITA

Essa dissertação foi apresentada às 14 horas, do dia 25 de Junho de 2019, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos, Linha de Pesquisa Ciência e Tecnologia de Produtos Alimentícios, no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos - PPGTA, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Manuel S. V. Plata Oviedo (Orientador – PPGTA)

Prof. Dra. Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici (Membro Externo – UNICAMP)

Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate (Membro Externo – UEPG)

* A via original com as assinaturas encontra-se na secretaria do programa.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a oportunidade de viver, de errar e aprender. Por ter me dado a luz necessária para entender os processos e as etapas da minha vida e ter me abençoado nos momentos difíceis me dando força e serenidade para seguir em frente.

Agradeço a toda minha família. Ao meu pai (*in memoriam*) que onde quer que esteja, nunca deixou de me amar, nem de confiar em mim. Pai, meu amor eterno. À minha mãe e meu irmão, pelo amor incondicional e apoio. Ao meu noivo, por toda paciência, incentivo e amor.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos, em especial ao Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo pela orientação, confiança e ensinamentos.

Agradeço imensamente aos meus amigos, pelas palavras de estímulo e coragem.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação Araucária pelo auxílio financeiro.

Aos membros da banca pela disposição e participação. E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

ARITA, Daniela Hirata. Amidos oxidados e modificados com ácido cítrico: obtenção e aplicação como agentes clarificadores do mosto cervejeiro. 2019. f.97. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2019.

No processo de fabricação de cerveja é comum o uso de agentes clarificadores a fim de reduzir partículas coloidais e obter um produto límpido e brilhante. Os clarificantes podem ser aplicados no mosto quente, na cerveja fermentada e/ou na maturação. A goma carragena, um polímero com características aniônicas, é um exemplo de agente clarificador aplicado no mosto quente para aumentar a sedimentação e compactação do complexo proteínas-polifenóis e assim, minimizar a turvação na cerveja. Essa clarificação resulta de interações eletrostáticas entre as cargas negativas da molécula de carragena e as proteínas carregadas positivamente. A modificação de amidos é uma alternativa para superar limitações dos amidos nativos e aumentar a utilidade desses em aplicações industriais. O presente estudo tem como objetivo obter amidos aniônicos por processos de oxidação com hipoclorito de sódio e de esterificação com ácido cítrico, a partir de amidos de milho, mandioca e batata, para serem posteriormente avaliados como potenciais clarificadores de cerveja. A modificação dupla (oxidação e esterificação) é também proposta como alternativa para aumentar a carga negativa do polímero, esperando-se obter melhor efeito na clarificação. A caracterização dos amidos modificados foi realizada através de análises de poder de inchamento e solubilidade, espectroscopia de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), viscosidade intrínseca, teor de amilose, determinação do percentual de esterificação e do teor de grupos carboxilas, difratometria de raios x (DRX), propriedades térmicas (DSC) e de pasta (RVA). Tais análises mostraram a obtenção de dextrinas nas amostras esterificadas com ácido cítrico, bem como a obtenção de amidos aniônicos para todas as modificações químicas realizadas. Entretanto, para os amidos tratados com ácido cítrico, são possíveis dois tipos de produtos: monoesterificados ou diesterificados (intercruzados), cujas diferenças nas estruturas químicas parecem interferir no poder de clarificação das cervejas, verificado pelos resultados de claridade e quantificação de proteínas e compostos fenólicos realizadas durante as etapas de produção de cerveja. As amostras somente tratadas com ácido cítrico apresentaram os melhores resultados nas análises de cerveja, ao contrário dos amidos duplamente modificados, o que indica uma possível reação de intercruzamento destes. O amido de batata dextrinizado com ácido cítrico (BaDC) foi o que apresentou poder clarificante próximo à carragena. Além disso, verificou-se também que a eficiência dos amidos modificados neste estudo ocorre principalmente durante a maturação, diferente da goma carragena que inicia a clarificação na etapa final de fervura.

Palavras-chave: Ácido orgânico. Esterificação. Dextrina. Cerveja. Clarificação.

ABSTRACT

ARITA, Daniela Hirata. Oxidized and modified citric acid starches: obtaining and application as clarifying agents of beer. 2019. f.97. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2019.

In the brewing process it is common to use clarifying agents in order to reduce colloidal particles and to obtain a clear and bright product. The clarifiers may be applied to hot wort, fermented beer and/ or maturation. Carrageenan gum, a polymer with anionic characteristics, is an example of a clarifying agent applied in the final boiling step to increase sedimentation and compaction of the protein-polyphenol complex and thereby minimize turbidity in beer. This clarification results from electrostatic interactions between the negative charges of the carrageenan molecule and the positively charged proteins. Modification of starches is an alternative to overcome limitations of native starches and to increase their usefulness in industrial applications. The present study aims to obtain anionic starches by oxidation with sodium hypochlorite and esterification processes with citric acid, from corn, cassava and potato starches, to be later evaluated as potential beer clarifiers. The double modification (oxidation and esterification) is also proposed as an alternative to increase the negative charge of the polymer, hoping to obtain a better clarification effect. The characterization of the modified starches was performed by analysis of swelling power and solubility, infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), intrinsic viscosity, amylose content, determination of esterification percentage and carboxyl group content, X-ray diffractometry (XRD), thermal (DSC) and paste properties (RVA). These analysis showed the obtaining of dextrans in the samples esterified with citric acid, as well as the obtaining of anionic starches for all the chemical modifications made. However, for treated starches with citric acid, two types of products are possible: monoesterified or diesterified (cross-linked), whose differences in chemical structures appear to interfere with the clarification power of beers, as shown by the results of clarity and quantification of proteins and compounds phenolics performed during the brewing stages. The only citric acid treated samples presented the best results in the beer analysis, as opposed to doubly modified starches, indicating a possible cross-linking reaction. The dextrinized potato starch with citric acid (BaDC) was the one that presented clarifying power closer to the carrageenan. In addition, it was also verified that the efficiency of the modified starches in this study occurs mainly during the maturation, different from the gum carrageenan that starts the clarification in the final stage of boiling.

Keywords: Organic acid. Esterification. Dextrin. Beer. Clarification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma do processo de fabricação do extrato de malte e da cerveja. .	21
Figura 2 Interações entre proteínas e polifenóis.	24
Figura 3 Estruturas químicas da amilose e amilopectina.	25
Figura 4 Representação esquemática do grânulo de amido mostrando as regiões amorfas e cristalinas.	25
Figura 5 Reação de oxidação do amido.	27
Figura 6 Mudanças estruturais que ocorrem durante a termoconversão do amido em dextrina.	28
Figura 7 Reação de esterificação de amido com ácido cítrico.	29
Figura 8 Espectros no FTIR dos amidos de milho, mandioca e batata nativos (MiN, MaN, BaN) e dos seus respectivos amidos modificados: oxidados com hipoclorito de sódio (MiO, MaO, BaO), dextrinizados com ácido cítrico (MiDC, MaDC, BaDC) e duplamente modificados por oxidação e dextrinização (MiODC, MaODC, BaODC).	46
Figura 9 Micrografias dos grânulos do amido de milho nativo (a) e dos seus respectivos amidos modificados: (b) Oxidado, (c) Dextrinizado com ácido cítrico, (d) Oxidado e Dextrinizado. Magnificação de 1000X.	51
Figura 10 Micrografias dos grânulos do amido de mandioca nativa (a) e dos seus respectivos amidos modificados: (b) Oxidado, (c) Dextrinizado com ácido cítrico, (d) Oxidado e Dextrinizado. Magnificação de 1000X.	52
Figura 11 Micrografias dos grânulos do amido de batata nativa (a) e dos seus respectivos amidos modificados: (b) Oxidado, (c) Dextrinizado com ácido cítrico, (d) Oxidado e Dextrinizado. Magnificação de 1000X.	52
Figura 12 Difractogramas de raios X dos amidos nativos e seus respectivos amidos modificados.	57
Figura 13 Perfil térmico dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados.	62
Figura 14 Perfis viscoamilográficos dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados: (a) milho, (b) mandioca e (c) batata.	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Apresentação das amostras e modificações realizadas.....	31
Tabela 2 Teor de grupos carboxílicos (%COOH), percentual de esterificação (%E) e grau de substituição (GS) dos amidos modificados.	41
Tabela 3 Teor de amilose e viscosidade intrínseca dos amidos modificados e seus respectivos amidos nativos.	48
Tabela 4 Poder de inchamento e solubilidade a 25°C e 60°C dos amidos modificados e seus respectivos amidos nativos.....	55
Tabela 5 Cristalinidade relativa (CR) dos amidos modificados e de seus.....	58
Tabela 6 Parâmetros térmicos de gelatinização dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos oxidados.	60
Tabela 7 Propriedades de pasta dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados.	64
Tabela 8 Teor de proteínas (mg/L) do mosto quente (MQ), mosto frio (MF), final da fermentação (FF), meio da maturação (MM) e final da maturação (FM).	92
Tabela 9 Teor de compostos fenólicos totais (mg EAG/L) do mosto quente (MQ), mosto frio (MF), final da fermentação (FF), meio da maturação (MM) e final da maturação (FM).	93
Tabela 10 Análise de claridade (medida da absorbância em $\lambda=600$ nm) do mosto quente (MQ), mosto frio (MF), final da fermentação (FF), meio da maturação (MM) e final da maturação (FM).	94

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Concentração de proteínas (mg.L-1) no mosto quente (MQ) e no mosto frio (MF) das cervejas fabricadas.	68
Gráfico 2 Concentração de proteínas (mg.l-1) no final da fermentação (FF), no meio da maturação (MM) e no final da maturação (FM) das cervejas fabricadas.....	69
Gráfico 3 Teor de compostos fenólicos (mg EAG.L-1) no mosto quente (MQ) e no mosto frio (MF) das cervejas fabricadas.	71
Gráfico 4 Teor de compostos fenólicos (mg EAG.L-1) no final da fermentação (FF), no meio da maturação (MM) e no final da maturação (FM) das cervejas fabricadas.	71
Gráfico 5 Claridade das cervejas fabricadas pela medida da absorbância ($\lambda=600\text{nm}$) no mosto quente (MQ) e no mosto frio (MF).	73
Gráfico 6 Claridade das cervejas fabricadas pela medida da absorbância ($\lambda=600\text{nm}$) no final da fermentação (FF), no meio da maturação (MM) e no final da maturação (FM).....	73
Gráfico 7 Produção nacional de cerveja em milhões de hectolitros por ano.	98

LISTA DE SIGLAS

CR – Cristalinidade Relativa

DRX – Difractometria de Raios X

DSC – *Differential Scanning Calorimetry*

FT-IR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*

GS – Grau de Substituição

HCl – Ácido Clorídrico

ISO – *International Organization for Standardization*

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

NaClO – Hipoclorito de Sódio

NaOH – Hidróxido de Sódio

RVA – *Rapid Visco Analyser*

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 CERVEJA: OS INGREDIENTES	18
3.1.1 Água.....	18
3.1.2 Malte.....	19
3.1.3 Lúpulo.....	19
3.1.4 Levedura	20
3.2 EXTRATO DE MALTE E O PROCESSO DE PRODUÇÃO DA CERVEJA	20
3.3 CLARIFICAÇÃO DO MOSTO	22
3.4 AMIDO.....	24
3.5 MODIFICAÇÃO DO AMIDO	26
3.5.1 Oxidação	26
3.5.2 Dextrinização e esterificação com ácido cítrico.....	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 MATERIAL	30
4.2 AMOSTRAS	30
4.3 MODIFICAÇÃO QUÍMICA DOS AMIDOS	31
4.3.1 Oxidação com Hipoclorito de sódio	31
4.3.2 Dextrinização/ Esterificação com Ácido cítrico	32
4.3.3 Modificação dupla	32
4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL DOS AMIDOS	32
4.4.1 Determinação do teor de carboxilas (%COOH).....	32
4.4.2 Determinação do percentual de esterificação (%E) e do grau de substituição (GS).....	33
4.4.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	34
4.4.4 Teor de amilose.....	34
4.4.5 Viscosidade intrínseca.....	35

4.4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	35
4.4.7 Poder de inchamento e solubilidade	36
4.4.8 Difratomia de raios X (DRX) e cristalinidade relativa (CR)	36
4.4.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	37
4.4.10 Propriedades de pasta (RVA).....	37
4.5 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS	37
4.5.1 Preparo das amostras	37
4.5.2 Fabricação das cervejas.....	38
4.6 AVALIAÇÃO DA CLARIFICAÇÃO.....	39
4.6.1 Quantificação de proteínas pelo método de Bradford	39
4.6.2 Determinação de compostos fenólicos totais	39
4.6.3 Claridade	40
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL DOS AMIDOS	41
5.1.1 Determinação do teor de carboxilas (%COOH).....	41
5.1.2 Determinação do percentual de esterificação (%E) e do grau de substituição(GS).....	43
5.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i> (FTIR).....	44
5.1.4 Teor de amilose.....	47
5.1.5 Viscosidade intrínseca.....	48
5.1.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	50
5.1.7 Poder de inchamento e solubilidade	53
5.1.8 Difratomia de raios X (DRX) e cristalinidade relativa (CR)	55
5.1.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	59
5.1.10 Propriedades de pasta (RVA).....	63
5.2 AVALIAÇÃO DA CLARIFICAÇÃO.....	66
5.2.1 Determinação da concentração de proteínas.....	67
5.2.2 Determinação dos compostos fenólicos totais	70
5.2.3 Claridade	72
6 CONCLUSÃO	75
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
APÊNDICES	92

ANEXOS	98
---------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

A legislação brasileira (BRASIL, 2009) define cerveja como a bebida carbonatada obtida pela fermentação alcoólica de mosto oriundo de malte de cevada e água potável, por ação de levedura, com adição de lúpulo. Para a elaboração, deve-se ter atenção a todo o processo, pois os detalhes influenciarão no resultado. Um aspecto vítreo e brilhante conta pontos na qualidade da cerveja e é influenciado diretamente pela presença de turbidez.

Uma cerveja pode tornar-se turva por dois fatores principais: crescimento de microorganismos e coagulação de colóides. No primeiro caso, o crescimento de bactérias pode ocorrer em cerveja não pasteurizada (chope) armazenada de forma inadequada - sem refrigeração, por exemplo. Em cerveja pasteurizada esse problema é praticamente inexistente (BAMFORTH, 1999). No entanto, a principal causa de turbidez na cerveja se deve a formação de complexos de proteínas e polifenóis chamada "*trub*", que de acordo com a temperatura de coagulação, pode ser classificado em *trub* quente e *trub* frio (*chill haze*) (BRITES et al., 2000).

Dessa forma, no processo de produção de cerveja, principalmente na etapa final de fervura do mosto, pretende-se eliminar o excesso de proteínas através da desnaturação térmica e da formação de complexos entre as proteínas e os polifenóis presentes no lúpulo (WARD, 2015). Para auxiliar a remoção de tais compostos nesta etapa, é comum a adição de um agente clarificante (NACHEL, 2008), sendo a carragena a mais utilizada. Trata-se de um polissacarídeo carregado negativamente (PEREIRA, 2004) que ligam-se as cargas positivas das proteínas resultando na precipitação a quente do complexo proteína-carragena, que é separado do mosto por turbilhonamento (PEDROSO, 2006).

O amido é um polímero versátil e de baixo custo, obtido de diferentes fontes botânicas (DA RÓZ et al., 2001) e que pode receber diversos tipos de tratamentos químicos e/ou físicos para que apresente propriedades e ou características desejadas em aplicações específicas (KAUR et al., 2012). Algumas modificações podem resultar em um amido carregado negativamente (LI et al., 2009) e, essa carga negativa é capaz de reagir com proteínas através das ligações eletrostáticas (LI et al., 2012).

Muitas pesquisas têm modificado amidos através da dextrinização com ácidos orgânicos, obtendo-se amidos esterificados com ácidos cítrico (MEI, 2015; XIE; LIU, 2004; WING, 1996), málico (OLIVATO et al., 2012; YUN et al., 2006) e tartárico

(JOCHYM et al., 2012; CHIN et al., 2012). Por se tratarem de ácidos policarboxílicos poderão apresentar grupo(s) carboxílico(s) que participarão da ligação éster conferindo ao amido características aniônicas. Segundo Wing (1996), o amido citrato apresentou alta capacidade de se ligar com o íon cobre (Cu^{+2}).

O uso de amidos oxidados na indústria alimentícia tem aumentado devido à introdução de grupos carbonilas e carboxilas nos grânulos de amido (KUAKPETOON; WANG, 2001). Microgéis de amidos oxidados têm se mostrado capazes de encapsular compostos com cargas positivas como proteínas (WANG et al., 2015; LI et al., 2012) e antocianinas (WANG et al., 2013) via interação eletrostática.

Diante disso, acredita-se que amidos e/ou dextrinas contendo características aniônicas (grupos carboxilatos) possam agir como precipitadores de proteínas apresentando ação clarificante no processo de fabricação de cerveja. Deste modo, o objetivo do trabalho foi obter esses amidos carregados negativamente a partir da dextrinização com auxílio de poliácido orgânico, da oxidação com hipoclorito de sódio e da combinação de ambas (modificação dupla), bem como aplicá-los no processo de clarificação do mosto cervejeiro.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter amidos e dextrinas carregados negativamente a partir dos amidos de batata, milho e mandioca e avaliar a sua aplicação como agentes clarificadores do mosto cervejeiro.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Modificar quimicamente os amidos de batata, milho e mandioca com ácido cítrico 10% (m/m) – dextrinização – e hipoclorito de sódio 6% (m/m) – oxidação – promovendo a formação de cargas negativas.
- Caracterizar as propriedades físico-químicas (percentual de carboxilas, percentual de esterificação, teor de amilose, viscosidade intrínseca) funcionais (poder de inchamento e solubilidade), morfológicas (MEV), viscoamilográficas (RVA), térmicas (DSC) e estruturais (Difratometria de raios X - DRX) dos amidos modificados.
- Confirmar a esterificação das dextrinas obtidas utilizando espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).
- Produzir cervejas utilizando os amidos modificados no processo de clarificação de cerveja comparando com o clarificante goma carragena e com uma cerveja sem clarificante.
- Avaliar o efeito clarificante dos diferentes amidos modificados através das análises: claridade (absorbância), quantificação de compostos fenólicos e de proteínas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CERVEJA: OS INGREDIENTES

A cerveja é uma bebida carbonatada, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de malte de cevada com outros cereais malteados (ou não) e água potável, por ação da levedura cervejeira e pela adição de lúpulo. Qualquer variação nesses ingredientes e/ou processos gera diferentes tipos de cerveja (TSCHOPE, 2001).

A produção de cerveja no Brasil apresenta uma tendência crescente nos últimos 30 anos (Gráfico 7 em anexo) e recentemente alcançou o patamar de 140 milhões de hectolitros (mi hL) colocando o Brasil em terceiro lugar no ranking mundial atrás apenas da líder China (460 mi hL) e dos EUA (221 mi hL) e a frente da Alemanha (95 mi hL) e da Rússia (78 mi hL) (BARTH-HASS, 2016; CERVBRAIL, 2016).

De acordo com Varnam; Sutherland (1997) e Venturini Filho (2005), a água é muito importante na fabricação da cerveja, pois representa cerca de 95% de sua composição e influencia diretamente na qualidade do produto. Os cereais são fontes de carboidratos fermentescíveis, proteínas e minerais, sendo a cevada malteada a mais utilizada. A partir do lúpulo se obtém os óleos essenciais responsáveis pelo aroma, e as resinas amargas que conferem à bebida o amargor e sabor característico. Do lúpulo também provêm proteínas, polifenóis e substâncias mineirais. As leveduras são responsáveis pela fermentação do mosto lupulado, com formação de produtos que determinam o sabor da cerveja e conferem as características próprias da bebida.

3.1.1 Água

Em quantidade, a água é o principal componente da cerveja (VENTURINI FILHO, 2005; VARNAM; SUTHERLAND, 1997). Assim, é necessário que além da potabilidade da água, características sensoriais (cor, odor, sabor), padrões microbiológicos e níveis de materiais inorgânicos estejam de acordo com os padrões requeridos para a produção (BRIGGS et al., 2004). O perfil de minerais da água tem grande influência na conversão de açúcares no mosto. A água dura, rica em sais minerais, é excelente para a cerveja amarga; a água leve, encontrada em regiões montanhosas, é ideal para cervejas mais leves. Atualmente, as cervejarias tratam a

água por osmose reversa para depois acrescentar sais minerais de acordo com o estilo de cerveja a ser fabricado (SANTOS et al., 2013).

No entanto, para a fabricação de cerveja com extrato de malte, não há tanta preocupação em controlar o perfil da água, pois não há a etapa de mosturação. Neste caso, a água da rede pública geralmente é boa e não necessita de nenhum ajuste (PALMER, 2006).

3.1.2 Malte

O malte utilizado na indústria cervejeira é obtido a partir de cevadas de variedades selecionadas especificamente para essa finalidade (CEREDA, 1985). Os cereais maltados servem de fontes de carboidratos fermentescíveis, proteínas e minerais (VENTURINI FILHO, 2005; VARNAM; SUTHERLAND, 1997).

Durante o processo de germinação da cevada para obtenção do malte, são produzidas enzimas pelo próprio metabolismo da semente para que o amido do endosperma seja parcialmente hidrolisado em açúcares fermentescíveis (MATOS, 2011). Para preservar a atividade enzimática, o malte é seco até atingir cerca 5% de umidade (PORTO, 2011; SACHS, 2001). Em seguida, o malte é tostado a temperaturas de 70 a 80°C para obtenção de maltes claros de elevada atividade enzimática como o malte pilsen usado como malte base, precursor dos açúcares fermentescíveis. E quando tostado a elevadas temperaturas (100 a 300°C) se obtêm maltes escuros, sem atividade enzimática, usados em pequenas quantidades (1 a 5%) para conferir cor, aroma e sabor a cerveja (PORTO, 2011).

3.1.3 Lúpulo

O lúpulo tem como função principal, no processo de fabricação da cerveja, inserir características de aroma e amargor, oriundas dos óleos essenciais e das resinas (α -ácidos) respectivamente (KUNZE, 1999).

Trata-se de uma planta trepadeira com o nome de *Humulus lupulus* cultivada em climas frios. Além de resinas e óleos essenciais, possuem também em sua composição proteínas, polifenóis e substâncias minerais (VENTURINI FILHO, 2005; VARNAM; SUTHERLAND, 1997). Suas proteínas têm forte influência sobre as características da espuma da cerveja (TSCHOPE, 2001). Os polifenóis presentes

formam ligações de hidrogênio com polipeptídeos que se complexam (ASANO et al., 1982). A reação entre polifenóis e proteínas limitam a vida útil da cerveja, uma vez que estão diretamente relacionados à estabilidade coloidal do produto (BRIGGS et al., 2004).

3.1.4 Levedura

A levedura é o microrganismo responsável pela conversão de açúcares fermentescíveis em etanol e outros subprodutos que determinam o sabor da cerveja e conferem as características próprias da bebida. (VENTURINI FILHO, 2005; OSMAN et al., 2003; VARNAM; SUTHERLAND, 1997).

É no estágio da fermentação que a cerveja se define em dois tipos principais: ale e lager (EVANGELISTA, 2012). Ou seja, é a escolha da levedura que diferencia as cervejas de alta (ale) e de baixa (lager) fermentação (COLE, 2011).

A *Saccharomyces cerevisiae* é a espécie de levedura responsável pelas cervejas de fermentação em alta temperatura, entre 15 e 22°C, e costuma levar de 4 a 7 dias (MATOS, 2011). São chamadas de cervejas de alta fermentação, porque durante o processo as células de levedura ficam no topo do recipiente, formando uma espuma (COLE, 2011). Já a levedura de fermentação em baixa temperatura, *Saccharomyces pastorianus*, é um híbrido genético da levedura de ale *Saccharomyces cerevisiae* e *S. bayanus* (COLE, 2011). A fermentação ocorre em temperaturas de 6 a 15°C, e é também chamada de baixa fermentação, pois as células se acumulam no fundo do recipiente no término do processo fermentativo, que costuma durar em torno de 10 dias (MATOS, 2011).

3.2 EXTRATO DE MALTE E O PROCESSO DE PRODUÇÃO DA CERVEJA

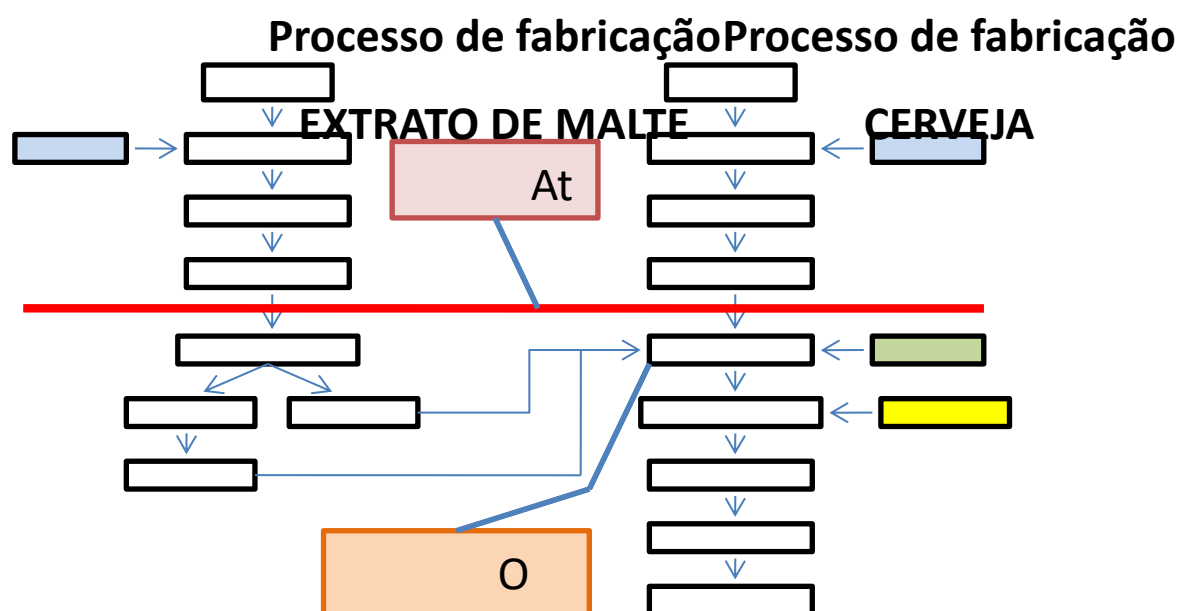
O extrato de malte cervejeiro é o mosto concentrado e pasteurizado. Seu uso torna a fabricação de cerveja mais fácil e rápido, pois elimina a etapa de mosturação (Figura 1). É vendido tanto em forma líquida (xarope) quanto em pó. O extrato seco é produzido aquecendo o extrato líquido e pulverizando em vaporizador numa câmara aquecida (PALMER, 2006).

Em relação à quantidade de extrato de malte, usa-se cerca de 500 g de extrato para cada 4 litros de água para uma cerveja de corpo leve, e 750 g para uma cerveja

rica e encorpada (PALMER, 2006). Nessa proporção, a concentração de açúcar de malte no mosto descrita pela densidade original (OG) fica por volta de 1.040 – 1.043. A maioria das cervejas comerciais tem OG de 1.035 - 1.050 antes do início da fermentação (LODAHL, 1993).

Sleiman e Venturini Filho (2004) compararam cervejas produzidas com malte, extrato de malte na forma de xarope (EMX) e extrato de malte em pó (EMP). O EMX e o EMP apresentaram perfil de carboidratos semelhante ao mosto de malte e todas as cervejas apresentaram a mesma preferência para o painel sensorial.

Figura 1 Fluxograma do processo de fabricação do extrato de malte e da cerveja.



Fonte: Autoria própria.

A fabricação tradicional de cerveja é descrita por Szwajgier e Bancarzewska (2011) e compreende basicamente as seguintes etapas (Figura 1):

- **Moagem do malte:** o malte é colocado no interior de um moinho de rolos para expor o amido do grão (endosperma), além de aumentar a área superficial para ação das enzimas na etapa da mosturação (EVANGELISTA, 2012). A moagem deve ser adequada sem fragmentar demasiadamente a casca que serve como material filtrante (STUBITS et al., 1986).
- **Mosturação ou Brassagem:** é o processo de embeber o malte em água quente para obtenção do mosto (EVANGELISTA, 2012). As enzimas contidas no grão de cevada maltada, por influência da temperatura, iniciam a hidrólise do amido, convertendo-o em açúcares fermentescíveis (maltose, glicose, maltotriose) e

dextrinas, além de extrair outras substâncias como proteínas e polifenóis (taninos) (MATOS, 2011). Obtém-se, assim, um líquido adocicado denominado mosto.

- Filtração: o mosto é separado da parte insolúvel do malte (bagaço) (EVANGELISTA, 2012). Esta etapa é dividida em duas fases: na primeira, a fração líquida simplesmente atravessa o leito filtrante, dando origem ao mosto primário. Na segunda etapa, o resíduo sólido é lavado com água fervente, visando a recuperação do extrato que fica retido na torta de filtro e, conseqüentemente, elevando o rendimento do processo (EATON, 2006).

- Fervura: nessa etapa ocorre a adição do lúpulo (COLE, 2011). A temperatura elevada contribui para a extração e isomerização dos α -ácidos e de outros componentes do lúpulo (BRUNELLI, 2012; MATOS, 2011). Outros objetivos da fervura são: concentrar o mosto, esterilizar, intensificar a cor (reação de Maillard), inativar as enzimas e coagular proteínas presentes no mosto (BRUNELLI, 2012).

- Separação do trub quente: a clarificação do mosto ocorre por meio da retirada do trub quente que são flocos que se depositam no fundo das tinas de fervura, sendo compostos principalmente por proteínas coaguladas, polifenóis, lipídeos e bagaço do lúpulo (SCHISLER et al., 1982). A clarificação é realizada por um técnica de sedimentação por turbilhonamento conhecida como Whirlpool (EVANGELISTA, 2012), que consiste no bombeamento tangencial do mosto à parede do tanque. Esse movimento resulta na compactação do trub quente, facilitando assim a sua remoção (HORNSEY, 1999 apud BRUNELLI, 2012). O mosto clarificado a seguir é resfriado até temperatura ideal de fermentação (MATOS, 2011).

- Fermentação: os açúcares fermentescíveis do mosto são metabolizados pelas leveduras e convertidos em etanol e dióxido de carbono (EVANGELISTA, 2012). Essa etapa tem duração de aproximadamente 5 a 15 dias e temperaturas de 8 a 25°C dependendo da cepa de levedura (BRIGGS et al., 2004).

- Maturação: o objetivo dessa etapa é refinar o sabor e o aroma da cerveja; carbonatar parcialmente o produto (fermentação secundária) e clarificar o líquido através de deposição do fermento e outros materiais em suspensão (BRUNELLI, 2012).

3.3 CLARIFICAÇÃO DO MOSTO

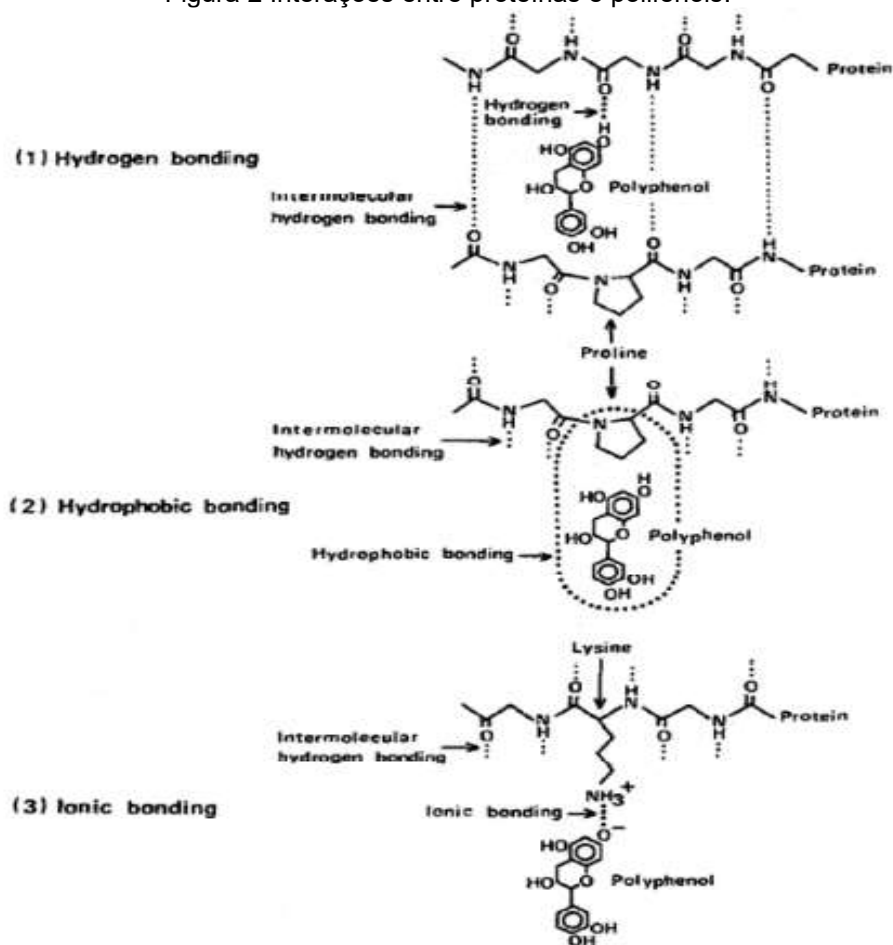
Embora a turbidez da cerveja seja uma característica natural da bebida e até mesmo um elemento que diferencia certos estilos, obter uma cerveja mais límpida pode contribuir significativamente para o sabor, aparência visual (WOLFE et al., 2012) e estabilidade coloidal (CÁRDENAS, 2003). A matéria-prima utilizada para a produção da cerveja é fonte de precursores da turbidez – compostos fenólicos (polifenóis) e proteínas (KEUKELEIRE, 2000).

Em altas temperaturas, as proteínas que provocam a turvação no mosto se desnaturam e se combinam com os polifenóis (sobretudo taninos), formando coágulos grandes (complexos proteína-polifenol) (WARD, 2015) que precipitam. Essa interação pode ocorrer por meio de ligações de hidrogênio, ligações iônicas e interações hidrofóbicas como mostra a Figura 2. Uma coagulação eficiente é favorecida por boas condições de ebulição do mosto, ou seja, de duração suficiente (mínimo de uma hora) e vigor (uma boa fervura) (HOUGH, 1982) para maximizar a desnaturação. Nestas condições, o sedimento quente (hot break) é formado como grandes flocos que são removidos de forma relativamente fácil pela técnica de turbilhonamento. Entretanto, se a coagulação for ineficiente, formar-se-ão flocos finos que podem permanecer em suspensão e serem transportados para as fases subsequentes do processo de fabricação da cerveja.

Dessa forma, o processo de produção aponta a remoção dessas partículas na etapa de fervura, que vão melhorar a clarificação, e conseqüentemente, a qualidade da cerveja acabada. Para reforçar a precipitação dessas partículas, são adicionados ao mosto agentes clarificadores (LEATHER; WARD, 1995). A reação que acontece nesse procedimento é uma interação eletrostática entre as moléculas carregadas negativamente do clarificante e as proteínas (cargas positivas), gerando uma co-precipitação desses compostos (NACHEL, 2008). O clarificante pode contribuir também ligando-se aos complexos taninos-protéicos (REINOLD, 1997).

Uma característica desejável durante a fervura do mosto é ter floculação rápida com coesão forte e compactação do trub, possibilitando a obtenção de um mosto claro (RYDER, POWER, 2006). Atualmente, utiliza-se a goma carragena (Irishmoss ou Whirlfloc®) como agente clarificante do mosto na etapa de fervura. Trata-se de um hidrocolóide carregado negativamente (grupos sulfatos) que se complexa com as proteínas facilitando a sedimentação (DALE et al., 1995).

Figura 2 Interações entre proteínas e polifenóis.



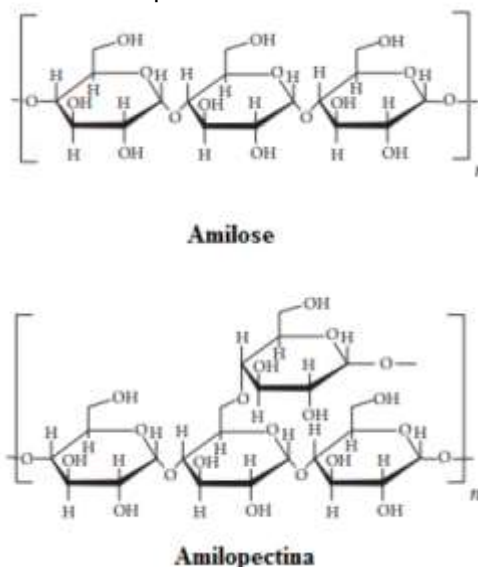
Fonte: Asano et al. (1982).

3.4 AMIDO

O amido é um polissacarídeo natural, sendo a principal fonte de reserva de carboidratos nas plantas e constitui fonte de energia essencial para muitos organismos. Constitui-se em pequenos agregados individuais denominados grânulos que apresenta forma e tamanho variável, sendo composto pelas macromoléculas amilose e amilopectina (SPIER, 2010).

A amilose é um polissacarídeo formado de cadeias lineares helicoidais de resíduos de glicose unidos entre si por ligações glicosídicas α -1,4, podendo apresentar pequenas ramificações, enquanto que a amilopectina constitui a fração altamente ramificada do amido, e é formada por várias cadeias de resíduos de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas α -1,4 das quais partem ramificações com ligações α -1,6 (Figura 3) (CERQUEIRA, 2012).

Figura 3 Estruturas químicas da amilose e amilopectina.

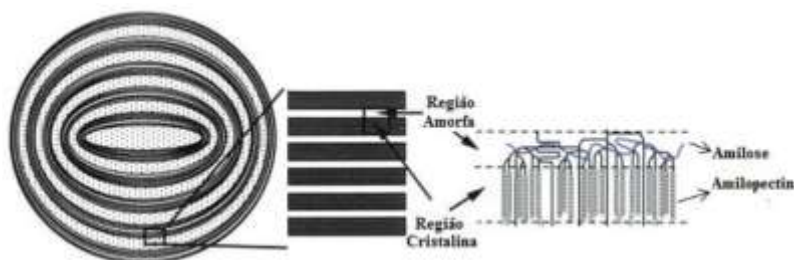


Fonte: Modificado de Chin, Pang e Lim (2012).

A proporção relativa e as diferenças estruturais entre a amilose e a amilopectina contribuem para as diferenças significativas nas propriedades do amido e funcionalidade das aplicações (WURZBURG, 2006). O teor de amilose nos amidos varia de acordo com a fonte vegetal de origem, mas, geralmente, encontra-se nos intervalos de 20-30% em amidos normais de cereais (SPIER, 2010). Zheng e Sosulski (1998) obtiveram um teor de amilose em torno de 24% para o milho, enquanto para mandioca e batata já se encontraram teores de amilose variando de 18-20% e 25%, respectivamente (TAKIZAWA et. al., 2004).

Os grânulos de amido nativo apresentam uma estrutura semicristalina, onde as cadeias da amilose e os pontos de ramificação da amilopectina dão origem às regiões amorfas, e a amilopectina, organizada em dupla hélice, representa o principal componente da região cristalina (Figura 4) (BLAZEK; GILBERT, 2011).

Figura 4 Representação esquemática do grânulo de amido mostrando as regiões amorfas e cristalinas.



Fonte: Modificado de Vandeputte e Delcour (2004).

As fontes de amido mais utilizadas mundialmente são, em grande parte, a de cereais como milho e trigo, e as de raízes e tubérculos, como mandioca, batata e batata-doce (FRANCO et al., 2008).

3.5 MODIFICAÇÃO DO AMIDO

O amido apresenta uma vasta gama de aplicações alimentares e não alimentares. Entretanto, os amidos nativos apresentam propriedades intrínsecas que limitam suas aplicações industriais e, em virtude disso, são comumente modificados (ZAVAREZE et al., 2010; KARIM et al., 2008).

A estrutura do amido nativo pode ser modificada por métodos físicos, químicos ou enzimáticos (BENINCA et al., 2013). A modificação química, largamente utilizada, geralmente envolve a oxidação, dextrinização, monoesterificação e intercruzamento dos grupos hidroxilas disponíveis nas unidades α -D-glicopiranosil do polímero (CHIU; SOLAREK, 2009).

Os amidos modificados apresentam maior funcionalidade em termos de estabilidade durante o processamento de alimentos industrializados quando comparados ao amido nativo, além de apresentarem melhorias quanto à formação e consistência do gel, à claridade e solubilidade das pastas e quanto as propriedades térmicas e mecânicas (SANDHU et al., 2008; SILVA et al., 2006). As modificações também podem ser empregadas com objetivo de diversificar o amido estruturalmente, promovendo caráter iônico ou hidrofílico (KAUR et al., 2012).

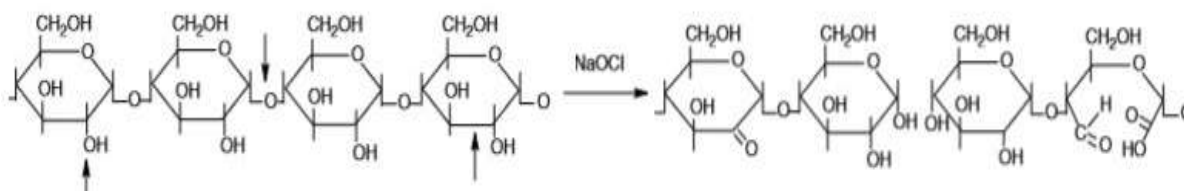
3.5.1 Oxidação

A oxidação por hipoclorito de sódio é uma das reações desenvolvidas para modificação do amido mais utilizada até hoje. Trata-se de uma reação química onde algumas hidroxilas são oxidadas preferencialmente a radicais carboxilas (COOH) e uma pequena quantidade a radicais carbonilas (C=O) (FRANCO et al., 2002). A oxidação ocorre nos carbonos C-2, C-3 e C-6 das unidades de glicose (KUAKPETOON; WANG, 2001) (Figura 5). Essa reação também provoca o rompimento das ligações D-glucana α -1,4 resultando na despolimerização da molécula (WURZBURG, 1986).

As características dos amidos oxidados são influenciadas pelas condições da reação – tipo e concentração de agente oxidante, pH, temperatura (SRIROTH et al., 2002). Em geral, com o aumento da concentração de hipoclorito de sódio observa-se a diminuição do peso molecular, da viscosidade intrínseca, da temperatura de gelatinização e aumento dos radicais carboxila e carbonila que conferem caráter iônico ao amido oxidado (CHATTOPADHYAY et al., 1997).

Baseado nisso, por possuírem cargas negativas acredita-se que os amidos oxidados possam reagir com as proteínas do mosto, promovendo sua precipitação.

Figura 5 Reação de oxidação do amido.



Fonte: Modificado de Vanier et al. (2017).

3.5.2 Dextrinização e esterificação com ácido cítrico

A reação de dextrinização, também denominada termoconversão, consiste em aquecer o amido em faixas de temperaturas de 110 a 220 °C na presença de um catalisador ácido, geralmente o ácido clorídrico ou ácido sulfúrico (KASICA et al., 2001). Esse processo resulta na hidrólise parcial do polímero e, em alguns casos, ocorre a repolimerização das macromoléculas poliméricas do amido (Figura 6) (HUBER; BeMILLER, 2010; WANG et al., 2001). Assim, a dextrinização leva a uma diminuição no peso molecular do amido, resultando em dextrinas com menor viscosidade e maior solubilidade em água fria (WURZBURG, 2006).

A dextrinização com ácidos orgânicos conduz a uma reação de esterificação durante a hidrólise do amiláceo (LEE et al., 2018). A reação de esterificação é muito utilizada para introduzir diferentes grupos laterais na molécula de amido (GENG et al., 2010) alterando suas propriedades térmicas e mecânicas (TEACĂ et al., 2013).

Figura 6 Mudanças estruturais que ocorrem durante a termoconversão do amido em dextrina.



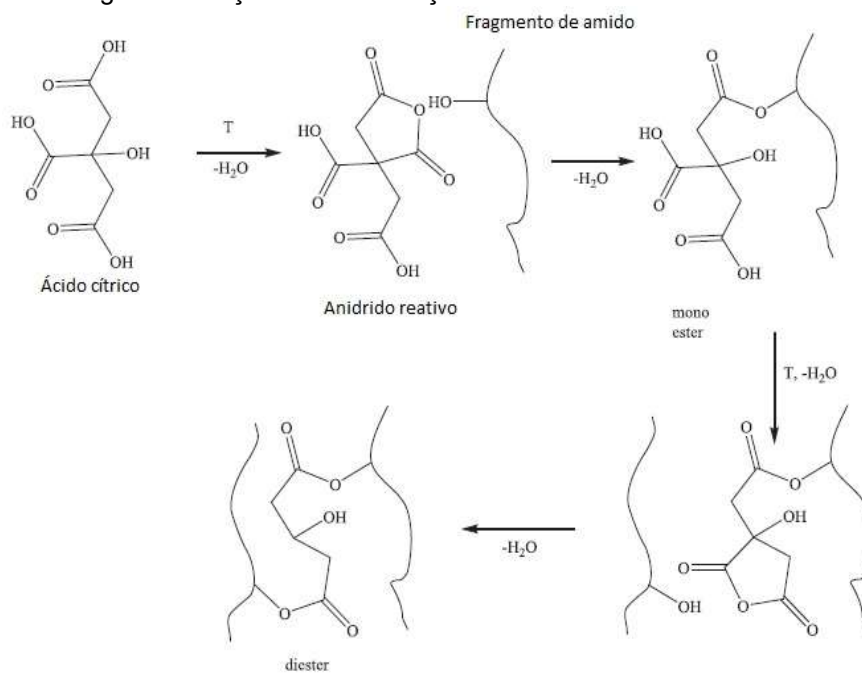
Fonte: Adaptado de Rutenberg (1980).

Assim, as dextrinas tratadas com ácidos orgânicos podem ter sua característica hidrofílica melhorada pela introdução de uma cadeia lateral com propriedades hidrofílicas na macromolécula do amido. Em relação à quantidade destes grupos laterais introduzidos na molécula de amido, se classifica em baixo e alto grau de substituição (GS). Segundo Yadav et al. (2007), o GS é definido como o número de grupos hidroxilas substituídos por unidade de D-glicose do polímero de amido.

De acordo com Singh et al. (2007), esse tipo de modificação depende da fonte botânica do amido e das condições reacionais, tais como concentração do reagente, tempo de reação, pH e presença de catalisador. Além da esterificação, também pode ocorrer reação de intercruzamento ao utilizar-se de reagentes multifuncionais capazes de formar ligações éster, intra e intermoleculares, nos grânulos de amido (LEE et al., 2018).

Entre os reagentes químicos que podem ser utilizados na esterificação de amidos, os ácidos orgânicos ganham destaque pela facilidade de obtenção e segurança para aplicações de grau alimentício (ZHU, 2015). Estudos recentes revelam que o ácido cítrico pode ser empregado na esterificação do amido (KAPELKO-ZEBERSKA et al., 2016; MEI et al., 2015; OLSSON et al., 2013; XIE, LIU, 2004; WEPNER et al., 1999; WING, 1996), por meio da substituição dos grupos hidroxilas da macromolécula do amido por grupos carboxílicos do ácido (Figura 7). O ácido cítrico é tricarboxílico, portanto, a sua reação com o amido pode resultar na formação de amidos monoésteres e/ou amidos intercruzados (diésteres) (KAPELKO-ZEBERSKA et al., 2016; XIE, LIU, 2004).

Figura 7 Reação de esterificação de amido com ácido cítrico.



Fonte: Kapelko-Zeberska et al. (2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os amidos de milho e mandioca foram obtidos pela Amafil Alimentos, Paraná, Brasil; e a fécula de batata da marca Terra Verde adquirida em comércio local. O ácido cítrico anidro ($C_6H_8O_7$ – PA – Dinâmica) e todos os outros compostos químicos utilizados para modificação e análises físico-químicas foram preparados e padronizados com reagentes de grau analítico. Para produção da cerveja, os ingredientes foram extrato de malte seco tipo pilsen, lúpulo amargor hercules 16,1% de α -ácidos (Barth-Hass Group – Lote:16-209), lúpulo aromático cascade 6,60% de α -ácidos (Barth-Hass Group – Lote: 0664) obtidos de uma microcervejaria local e levedura *Saccharomyces cerevisiae* de alta fermentação de denominação comercial Fermentis Safale S-04 fabricada na Bélgica.

4.2 AMOSTRAS

Para avaliar o efeito da clarificação de cerveja utilizando amidos modificados como substituto da carragena, foram aplicados três tipos de modificações (oxidação, dextrinização e modificação dupla – oxidação seguida de dextrinização), para cada fonte botânica, resultando em 9 tratamentos. O código, fonte botânica, tipo de modificação e concentrações de reagentes estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Apresentação das amostras e modificações realizadas.

Ensaio	Código	Fonte botânica	Modificação	Concentração (%)	Reagente
AN ^a	MiN	Milho	-	-	-
AN ^a	MaN	Mandioca	-	-	-
AN ^a	BaN	Batata	-	-	-
1	MiO	Milho	Oxidação	6	NaClO ^b
2	MaO	Mandioca	Oxidação	6	NaClO ^b
3	BaO	Batata	Oxidação	6	NaClO ^b
4	MiDC	Milho	Dextrinização	10	AC ^c
5	MaDC	Mandioca	Dextrinização	10	AC ^c
6	BaDC	Batata	Dextrinização	10	AC ^c
7	MiODC	Milho	Oxidação e Dextrinização	6; 10	NaClO ^b ; AC ^c
8	MaODC	Mandioca	Oxidação e Dextrinização	6; 10	NaClO ^b ; AC ^c
9	BaODC	Batata	Oxidação e Dextrinização	6; 10	NaClO ^b ; AC ^c

^aAmido nativo (sem modificação); ^bHipoclorito de sódio; ^c Ácido cítrico
Fonte: Autoria própria.

4.3 MODIFICAÇÃO QUÍMICA DOS AMIDOS

4.3.1 Oxidação com Hipoclorito de sódio

A oxidação dos amidos nativos foi realizada segundo o método descrito por Sangseethong et al. (2009), com algumas modificações. As amostras foram duplamente oxidadas. Uma suspensão contendo 40% de sólido foi preparada por adição de 750 g de água destilada em 500 g de amido nativo (b.s.). O pH foi ajustado para 8,5 com NaOH 3% (m/v). Adicionou-se hipoclorito de sódio (NaClO) por gotejamento ao longo de 30 minutos em temperatura ambiente, na concentração de 3% (m/m) de cloro ativo em relação a massa de amido, mantendo-se o pH entre 8,5 e 9,0 mediante adição de HCl 3% (m/v) e NaOH 3% (m/v). Após adição de hipoclorito, a dispersão foi mantida ao mesmo pH por mais 50 minutos sob agitação. O pH da suspensão foi ajustado para 6,5 pela adição de HCl 3% (m/v). Para interromper a oxidação foi adicionado bissulfito de sódio. O amido foi recuperado por filtração a vácuo, lavado com água destilada até completa remoção de sais. O amido recém

oxidado foi novamente suspenso em água destilada para ser duplamente oxidado. Repetiu-se as mesmas etapas da primeira oxidação, inclusive a concentração de hipoclorito de sódio (3% (m/m) de cloro ativo em relação a massa de amido). Finalmente, as amostras foram secas a 50°C, moídas até granulometria de 0,25 mm (60 mesh) e armazenadas em recipientes herméticos.

4.3.2 Dextrinização/ Esterificação com Ácido cítrico

Os amidos de milho, mandioca e batata foram dextrinizados utilizando a metodologia descrita por Xie e Liu (2004), com modificações. O ácido cítrico (10% (m/m)) foi dissolvido em 150 mL água destilada e o pH ajustado para 2,0 com hidróxido de sódio (NaOH) 40% (m/v). A solução de ácido cítrico foi misturada em 300 g de amido (b.s) a fim de obter uma pasta com 40 % de umidade. Em seguida, a amostra foi condicionada à temperatura ambiente por 16 horas para distribuição uniforme do ácido. O amido foi colocado em estufa com circulação de ar forçada a 50 °C para redução da umidade ($\leq 5\%$) e em seguida moído para homogeneização da granulometria. Após a moagem, as amostras foram submetidas ao tratamento térmico de 150 °C por 3 horas para dextrinização/esterificação e, em seguida, foram lavadas com etanol 60% (v/v) (1L/amostra) e parcialmente neutralizadas com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 3% (m/v) até pH 5,0 . Posteriormente, as amostras foram filtradas à vácuo, secas em estufa a 50 °C por 24 horas, moídas até granulometria de 0,25 mm (60 mesh) e armazenadas em recipientes herméticos.

4.3.3 Modificação dupla

Para obter amidos duplamente modificados, os amidos nativos foram primeiramente oxidados de acordo com o item 4.3.1. Em seguida, os amidos oxidados foram dextrinizados e esterificados com ácido cítrico 10% (m/m), conforme o item 4.3.2.

4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL DOS AMIDOS

4.4.1 Determinação do teor de carboxilas (%COOH)

O teor de grupos carboxilas foi determinado pelo método de Smith (1967) com modificações. Os amidos modificados foram dispersos em 250 mL de uma solução de HCl 0,1 mol/L e submetidos à agitação mecânica por 30 minutos. As dispersões foram filtradas e os resíduos foram lavados com água destilada até completa remoção do íon cloreto e, em seguida foram secos em estufa a 45°C por 12 horas. Amostras de 3,0 g dos amidos lavados foram dispersos em 100 mL de água destilada e se aqueceram as suspensões em banho de água fervente com agitação contínua por 15 minutos até a completa gelatinização do amido. As dispersões foram resfriadas até a temperatura ambiente e tituladas com solução de NaOH 0,075 M até pH 8,3. Como branco foram utilizadas amostras dos amidos nativos, as quais foram gelatinizadas e tituladas de maneira análoga aos dos amidos modificados. O teor de grupos carboxilas foi calculado utilizando a Equação 1, onde a % COOH corresponde ao percentual de carboxilas, V_1 ao volume (mL) de NaOH gasto para titular a amostra, V_2 ao volume (mL) de NaOH para titular o branco, $[NaOH]$ a concentração mol/L de NaOH padronizada, m a massa (g) da amostra (b.s) e 0,045 a massa (g) miliequivalente do grupo carboxila (-COOH).

$$\%COOH = \frac{(V_1 - V_2) \times [NaOH] \times 0,045}{m} \times 100 \quad (1)$$

4.4.2 Determinação do percentual de esterificação (%E) e do grau de substituição (GS)

A determinação %E foi realizada para as amostras que foram submetidas a tratamento térmico com ácido cítrico. A análise seguiu o método de Smith (1967), com modificações, que se baseia na hidrólise alcalina da ligação éster. Em triplicata, amostras de 2,0 g de amido (b.s.) foram suspensas em 50 mL de água destilada e colocadas em banho térmico a 90°C por 20 minutos. Após resfriamento a temperatura ambiente, as dispersões foram tituladas com solução de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ até pH 8,3. Em seguida, foram acrescentados 10 mL de solução padronizada de NaOH 0,5 mol.L⁻¹. O excesso do álcali foi titulado com solução padronizada de ácido clorídrico (HCl) 0,5 mol.L⁻¹. Os valores encontrados para as amostras foram subtraídos dos valores encontrados para o controle (amidos nativos). O %E representa a massa (g) de grupos

citrato (HOOC-CH₂-C(COOH)(OH)-CH₂-COOH) introduzidos em 100 g de amido e foi determinado pela Equação 2.

$$\%E = \frac{(V_C - V_A) \times [HCl] \times 0,17513}{m} \times 100 \quad (2)$$

Onde, V_C corresponde ao volume de HCl gasto na titulação do controle (mL), V_A ao volume da titulação da amostra, $[HCl]$ a concentração padronizada do ácido (mol.L⁻¹), m corresponde a massa das amostras em base seca (g), e $0,17513$ a massa milimolar do grupo citrato.

O GS expressa, em base molar, o número médio de hidroxilas que foram substituídas em cada unidade de glicose da estrutura do amiláceo e foi determinado pela Equação 3.

$$GS = \frac{162 \times \%E_{citrato}}{(17513,0 - (174,13 \times \%E_{citrato}))} \quad (3)$$

Na Equação 3, 162 é referente a massa molar de uma unidade de glicose anidra; 17513,0 é referente a massa molar do grupo citrato multiplicado por 100; 174,13 é referente a massa molar do grupo citrato menos 1.

4.4.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros foram registrados utilizando espectrômetro de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (*Perkin Elmer* - modelo *Frontier*), em um intervalo de onda de 4000-500 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e 64 varreduras para cada leitura. As amostras foram previamente secas a 100 °C por 48 horas. Para obtenção das pastilhas, foi utilizado 100 mg de brometo de potássio (KBr) de grau espectroscópico e 1 mg de amostra seca.

4.4.4 Teor de amilose

O teor de amilose foi determinado de acordo com método ISO 6647 (*International Organization for Standardization*, 1987). Foram preparadas soluções

com diferentes proporções de amilose e amilopectina. Essas soluções em condições padronizadas foram adicionadas de uma solução de iodo e a intensidade da cor azul foi determinada por meio de um espectrofotômetro em 620 nm. Com esses dados foi elaborada uma curva padrão relacionando o teor de amilose com absorvância. Às dispersões de amidos e dextrinas foram adicionadas solução de iodo e os valores da absorvância determinados, que por meio de curva padrão determinou-se o teor de amilose. Para a realização da análise todas as amostras foram previamente desengorduradas utilizando extrator Soxhlet e metanol 90% (v/v) durante 24 horas, segundo Chrastil (1987).

4.4.5 Viscosidade intrínseca

A viscosidade intrínseca foi determinada segundo metodologia descrita por Zhang et al (2015), usando viscosímetro *Cannon-Fenske* n° 50, mantido em banho de água ajustado a 25 °C. Nestas condições, determinou-se o tempo de fluxo (em segundos) das amostras diluídas (0,1 g.100 mL⁻¹) e do solvente dimetilsulfóxido de sódio (DMSO) 100% (v/v). A viscosidade intrínseca foi calculada pela equação de Solomon e Ciuta (1962) com base em um único ponto, conforme Equação 4.

$$\eta_{in} = \left(\frac{1}{c}\right) \times \sqrt{2(\eta_{sp} - \eta_{\eta R})} \quad (4)$$

Onde, η_{in} corresponde à viscosidade intrínseca (dL.g⁻¹), c à concentração da solução (g.dL⁻¹), η_{sp} à viscosidade específica (dL.g⁻¹) e $\eta_{\eta R}$ corresponde à viscosidade relativa (dL.g⁻¹).

4.4.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido foi determinada em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, TM 3000 Hitachi Tabletop Microscope, Tokyo) da Central de Análises da UTFPR câmpus de Pato Branco. O potencial de aceleração foi de 15 kV e a observação foi feita em amostras de amidos depositadas na superfície de uma fita adesiva de dupla face, com ampliação de 1000x.

4.4.7 Poder de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos nativos e modificados foram determinados como descrito por Leach, McCowen e Schoch (1959). Uma suspensão de amido foi preparada misturando 1,0 g de amido em 40 mL de água destilada em tubos de centrífuga, previamente tarados. A suspensão foi agitada e levada em banho térmico, com agitação, por 30 minutos a temperatura de 25°C e de 60°C. Os tubos foram retirados do banho, resfriados a temperatura ambiente e centrifugados por 10 minutos acima de 4000 g.

O sobrenadante foi seco em estufa a 105 °C por 24 horas, para determinação da massa de amido solúvel (M_1) e os tubos contendo os grânulos de amido intumescidos foram pesados para determinar a massa final intumescida (M_2) e calcular o poder de inchamento dos grânulos de amido.

A solubilidade foi calculada pela relação da massa de amido solúvel e a massa inicial de amido (M_i) em base seca pela Equação 5.

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

O poder de inchamento, expresso em g.g^{-1} , foi obtido pela Equação 6:

$$\text{Poder de inchamento}(\text{g.g}^{-1}) = \frac{M_2}{(M_i - M_1)} \quad (6)$$

4.4.8 Difratomia de raios X (DRX) e cristalinidade relativa (CR)

As amostras foram previamente acondicionadas em dessecador contendo solução saturada de BaCl_2 (25°C, $a_w = 0,9$) durante 10 dias para equilíbrio das umidades. Os difratogramas foram obtidos utilizando uma unidade *Rigaku MiniFlex 600 (Tokyo, Japan)* da Central de Análises da UTFPR câmpus Pato Branco, com radiação de Cu, velocidade de varredura de $5^\circ.\text{min}^{-1}$, voltagem de 30 kV e corrente de 10 mA, sob ângulo 2θ variando de 5 a 40°. A cristalinidade relativa foi calculada com base na relação entre a área dos picos e a área total dos difratogramas, conforme metodologia descrita por Nara e Komiya (1983).

4.4.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise térmica das amostras foi realizada utilizando um calorímetro diferencial de varredura da Central de Análises da UTFPR câmpus Pato Branco (TA *Instruments*, modelo DSC Q-20). As amostras foram pesadas em recipientes de alumínio e adicionadas de água destilada na proporção amido: água de 1: 3. Uma panela de alumínio vazia foi usada como referência. Os recipientes foram selados e equilibrados a temperatura ambiente por 2 h. A varredura foi realizada de 30 a 110°C a uma taxa de aquecimento de 5°C.min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 80 mL.min⁻¹, segundo metodologia proposta por Lawal (2004), com algumas modificações. Com base nos termogramas foram obtidos os seguintes valores: temperatura de início (Ti), temperatura de pico (Tp), temperatura final (Tf) e variação de entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}).

4.4.10 Propriedades de pasta (RVA)

As propriedades de pasta das amostras foram avaliadas segundo a metodologia modificada de Machado et al. (2010) em equipamento Rapid Visco Analyser (RVA) do Laboratório de Cereais, Raízes e Tubérculos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp. As amostras foram pesadas com base em 14% de umidade e misturadas em água destilada de forma a ter suspensões com concentração de 10% (m/m). As soluções foram aquecidas de 50°C até 95°C, e em seguida resfriados até 50°C sob agitação de 160 rpm. Os parâmetros viscoamilográficos avaliados foram: temperatura de formação de pasta (TP); viscosidade de pico (VP) ou viscosidade máxima, viscosidade de quebra (VQ) ou *breakdown* (diferença entre a viscosidade máxima e a viscosidade mínima), tendência a retrogradação (TR) ou *setback* (diferença entre a viscosidade final e a viscosidade mínima) e viscosidade final (VF).

4.5 PRODUÇÃO DAS CERVEJAS

4.5.1 Preparo das amostras

Inicialmente para a produção das cervejas, todos os utensílios utilizados foram sanitizados com álcool 70° GL e solução de ácido peracético 15%, com o objetivo de prevenir qualquer tipo de contaminação.

O tipo de cerveja avaliada foi uma cerveja de alta fermentação estilo Pale Ale.

Foram produzidas nove formulações de cerveja empregando os amidos modificados (Tabela 1) como agentes clarificantes. Paralelamente, foram fabricadas duas formulações como parâmetro comparativo: uma que utilizou o clarificante carragena (CA) e outra que não teve adição de nenhum tipo de clarificante denominada "Controle" (CO).

4.5.2 Fabricação das cervejas

Para facilitar, agilizar e obter melhor homogeneização das cervejas fabricadas utilizou-se extrato de malte no processo de produção que dispensa as etapas iniciais de moagem do malte, mosturação e filtração do mosto (Figura 1).

Inicialmente, o extrato de malte foi acrescido de água com pH 5,10 previamente regulado. A quantidade de água adicionada foi calculada de modo a obter para todas as formulações um teor de açúcar equivalente a 12,0 °Brix, que corresponde a uma densidade original de 1,048 g/mL.

A etapa de fervura da mistura extrato de malte, água e lúpulo amargor (0,9 g/L) foi realizada em um erlenmeyer equipado com um condensador de refluxo (LEATHER; WARD, 1995) para minimizar perdas por evaporação e assim, obter homogeneização dos mostos em relação à quantidade de sólidos solúveis. Após 45 minutos de fervura, adicionou-se o lúpulo aromático (0,7 g/L) e o agente clarificante (na dosagem de 100 mg/L para os amidos modificados e 50 mg/L para a carragena) e ferveu por mais 15 minutos.

Em seguida, o mosto foi transferido para um recipiente cilíndrico, agitado de forma circular (turbilhonamento) e uma alíquota foi retirada (mosto quente). A amostra ficou em repouso por 30 minutos para a sedimentação das proteínas (hot break) e, após, o sobrenadante foi separado por processo de sifonação, diretamente para o recipiente fermentador. Resfriou-se o mosto à temperatura de 25°C e se adicionou a levedura previamente hidratada (1,15 g de levedura seca/L). A fermentação ocorreu por 7 dias à 22- 23°C e a maturação por 14 dias à 10°C.

4.6 AVALIAÇÃO DA CLARIFICAÇÃO

Para avaliar o potencial dos amidos modificados na precipitação de proteínas e compostos fenólicos e, conseqüentemente, na clarificação do mosto, foram coletadas alíquotas de cada ensaio em pontos específicos do processo e, as mesmas foram submetidas a análises. Os pontos selecionados para avaliação foram:

- Mosto Quente: amostra coletada ao fim da fervura e adição do clarificante.
- Mosto Frio: amostra coletada da superfície do mosto quente e armazenada a 10°C por 24 horas.
- Final da Fermentação: amostra coletada após 7 (sete) dias de fermentação (22 - 23°C).
- Meia Maturação: amostra coletada após 7 (sete) dias em temperatura de 10°C
- Final da Maturação: amostra coletada após 14 (catorze) dias do final da fermentação.

4.6.1 Quantificação de proteínas pelo método de Bradford

A concentração de proteínas em suspensão no mosto foi quantificada pelo método de Bradford (1976). O meio foi constituído por 50 µL da amostra acrescidos de 2500 µL do reagente Comassie e a leitura realizada em espectrofotômetro (modelo 600 Plus, Femto) a 595 nm após 10 minutos de incubação. O fator de correção foi determinado usando uma curva experimental da albumina de soro bovino como padrão ($y = 0,016x + 0,121$; $R^2 = 0,995$).

4.6.2 Determinação de compostos fenólicos totais

O índice de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu segundo metodologia de Singleton e Rossi (1965) com algumas modificações. Foram pipetados 100 µL da amostra, 3000 µL de água destilada, e 250 µL de Folin-Ciocalteu. Após 3 minutos de repouso, adicionou-se 2,0 mL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5%. As soluções foram incubadas ao abrigo da luz por 30 minutos em banho-maria a 37°C

para completa reação. A seguir, a absorvância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro (modelo 600 Plus, Femto) previamente calibrado contra o branco. Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorvância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico ($y = 0,002x + 0,022$; $R^2 = 0,997$) e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg EAG.L⁻¹).

4.6.3 Claridade

A claridade das cervejas pode ser avaliada através da diminuição da absorvância, relacionada com menor número de partículas em suspensão (DALE et al., 1995). Assim, coletou-se alíquota da superfície das amostras e se mediu a absorvância a um comprimento de onda de 600 nm utilizando espectrofotômetro (modelo 600 Plus, Femto) (BRIGGS et al., 2004).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados experimentais foram analisados estatisticamente por ANOVA (análise de variância) ao nível de 5% de significância e a comparação entre as médias por Teste de Tukey, utilizando o software *Statistica 7.0* (Statsoft Inc., USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E FUNCIONAL DOS AMIDOS

5.1.1 Determinação do teor de carboxilas (%COOH)

Na Tabela 2 são mostrados os valores do teor de carboxilas (%COOH), do percentual de esterificação (%E) e grau de substituição (GS) dos amidos modificados.

Tabela 2 Teor de grupos carboxílicos (%COOH), percentual de esterificação (%E) e grau de substituição (GS) dos amidos modificados.

Amostra	%COOH	%E	GS
MiO	0,98 ± 0,00 ⁱ	-	-
MiDC	2,75 ± 0,01 ^c	6,61 ± 0,06 ^b	0,065 ± 0,001 ^b
MiODC	2,45 ± 0,00 ^f	7,37 ± 0,06 ^a	0,074 ± 0,001 ^a
MaO	1,24 ± 0,01 ^h	-	-
MaDC	2,89 ± 0,00 ^b	5,98 ± 0,02 ^c	0,059 ± 0,000 ^c
MaODC	2,59 ± 0,01 ^e	7,31 ± 0,04 ^a	0,073 ± 0,001 ^a
BaO	1,29 ± 0,00 ^g	-	-
BaDC	2,93 ± 0,01 ^a	4,01 ± 0,02 ^e	0,039 ± 0,000 ^e
BaODC	2,68 ± 0,01 ^d	4,70 ± 0,04 ^d	0,046 ± 0,001 ^d

*valores apresentam a média ± desvio padrão; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*).

Fonte: Autoria própria.

Na reação de oxidação os grupos hidroxilas das moléculas de amido são oxidados à grupos carbonila e grupos carboxila (RICHARDSON; GORTON, 2003; ABDEL-HAFIZ, 1995). Quando se usa o hipoclorito de sódio como agente oxidante a formação de grupos carboxilas é favorecida (WURZBURG, 1986). Sangseethong et al. (2010) oxidaram amido de mandioca com 3% (m/m) de cloro ativo e tempo reacional de 120 min. e obtiveram um teor de carboxila de aproximadamente 0,62%, corroborando com o percentual de carboxila obtido neste estudo para o amido de mandioca (1,24%) duplamente oxidado sob as mesmas condições. O amido de milho oxidado foi o que apresentou menor valor (0,98%) e o de batata o maior (1,29%). Todos foram estatisticamente diferentes entre si, mostrando que a extensão da

oxidação depende da origem do amido e, que amidos de tuberosas são mais propensos a esse tipo de reação do que os amidos de cereais (FORSSELL et al., 1995).

Kuakpetoon e Wang (2001) investigaram o efeito de diferentes fontes botânicas nas propriedades de amidos oxidados. A oxidação com 2% (m/m) de hipoclorito de sódio resultou em amido de batata com maior conteúdo de carboxila (0,39%) comparado ao de milho (0,14%) e de arroz (0,24%). Esses resultados concordam com os da Tabela 2, uma vez que o percentual de carboxilas de amidos oxidados aumenta conforme o aumento da concentração de NaOCl (HEBEISH et al., 1989; PREY; SIKLOSSY, 1971; MELLIES et al., 1960).

O ácido cítrico pode reagir com os grupos hidroxilas disponíveis nas unidades α -D-glicopiranosil do amido (XIE; LIU, 2004). Possíveis estruturas de ésteres formados entre o ácido cítrico e o polímero de amido são discutidas em detalhes por Bleier e Klaushofer (1983). A reação de esterificação pode resultar em mono-, di-, e tri-ésteres. Di-ésteres podem ser formados tanto intramolecularmente dentro da mesma molécula de polímero ou intermolecularmente entre duas moléculas de polímero, esta última é denominada de intercruzamento, ligação cruzada ou cross-linking. Para a diesterificação intramolecular, a formação de um diéster dentro da mesma molécula de polímero é estericamente possível, mas isso não leva a ligações cruzadas. A ocorrência de tri-ésteres é duvidosa (BLEIER;KLAUSHOFER, 1983).

Caldwell (1949) e Wurzburg (1960) relatam reações simultâneas de esterificação e intercruzamento do amido com ácido cítrico anidro em pH variando de 7-11 a temperatura ambiente e elevadas temperaturas. Com o objetivo de obter produtos biodegradáveis com alta capacidade de troca iônica, Wing (1996) aprimorou a reação termoquímica entre amido e ácido cítrico (20-100% (m/m)) minimizando o intercruzamento e maximizando a monoesterificação e, conseqüentemente, o conteúdo de carboxilas livres.

Para aplicar amidos modificados como agentes clarificadores em cervejas é interessante obter também produtos com características aniônicas para que tenham comportamento similar ao atual clarificante comercial goma carragena. Assim, baseando-se nas condições otimizadas por Wing (1996), obteve-se um teor de carboxilas de 2,93% para o amido de batata esterificado com ácido cítrico, seguido dos amidos de mandioca (2,89%) e de milho (2,75%), que foram coerentes com os resultados obtidos pelo autor.

Frente a esses resultados obtidos para os amidos oxidados e os esterificados com ácido cítrico, propôs-se realizar uma dupla modificação combinando-se a reação de oxidação seguida da esterificação, esperando-se um teor de carboxilas ainda maior. No entanto, observa-se, para os amidos duplamente modificados, uma diminuição do %COOH em relação às dextrinas esterificadas (Tabela 2) sendo provável a ocorrência de uma diesterificação. Entretanto, ainda não é possível afirmar se trata de uma reação de intercruzamento entre ácido cítrico e amido. Como a oxidação de amidos com hipoclorito de sódio acontece, principalmente na região amorfa do grânulo de amido (KUAKPETOON; WANG, 2008), outra hipótese a ser considerada é que essa região dos amidos oxidados se tornou mais suscetível à hidrólise do amido durante a dextrinização gerando fragmentos menores, passíveis de serem lixiviados da matriz de amido durante a lavagem com etanol 60% (v/v).

5.1.2 Determinação do percentual de esterificação (%E) e do grau de substituição(GS)

O percentual de esterificação, mostrado na Tabela 2, variou de 4,01 a 6,61% para os amidos dextrinizados com ácido cítrico e de 4,70 a 7,37% para os amidos oxidados e dextrinizados, indicando que houve esterificação do amido (Figura 7) em ambas modificações. Como consequência da variação nos percentuais de esterificação, o grau de substituição variou de 0,039 a 0,065 para os amidos esterificados e, de 0,046 a 0,074 para os amidos duplamente modificados.

Nota-se que a modificação dupla aumentou o percentual de esterificação em todas as fontes botânicas avaliadas e que a reação de oxidação favoreceu significativamente ($p \leq 0,05$) a esterificação das mesmas. Além de oxidar grupos hidroxilas das moléculas de amido a grupos carbonilas e carboxilas, a oxidação também ocasiona o rompimento das ligações α -1,4-D-glucana causando a despolimerização da molécula (WURZBURG, 1986), que resulta em cadeias mais curtas e, conseqüentemente, expõe mais grupos hidroxilas das cadeias de amido, facilitando assim a esterificação pelo ácido cítrico (LEE et al., 2018).

Mehbook et al. (2015) investigaram o efeito da modificação dupla via hidrólise ácida com ácido clorídrico (0,1; 0,5; 1,0 M) seguido de succinilação (anidrido succínico 4% (m/m)) em amidos de sorgo branco (*Sorghum bicolor*). Os autores obtiveram maior GS para o amido duplamente modificado com 1,0 M de HCl devido ao aumento da

área superficial dos grânulos após hidrólise excessiva provocada pelo ácido e, conseqüente, despolimerização do amido.

A diferença na substituição química entre os diversos tipos de amidos é devido às variações do empacotamento de amilose na região amorfa bem como da distribuição de amilose e amilopectina dentro do grânulo (MBOUGUENG et al., 2012). Comparando-se o grau de substituição obtido entre as diferentes fontes botânicas (Tabela 2), observa-se que o amido de batata em ambas as modificações apresentou o menor percentual de esterificação em relação aos de mandioca e milho. É possível que a monoesterificação tenha sido favorecida para o amido de batata, já que apresentou também o maior teor de carboxilas livres, e assim, é de se esperar que tenha um melhor comportamento na clarificação de cerveja.

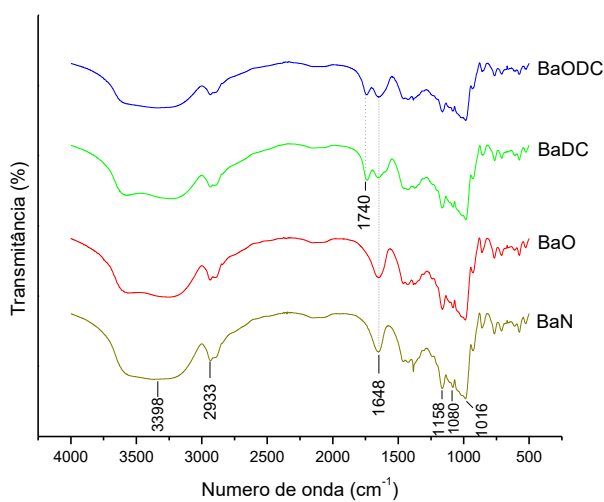
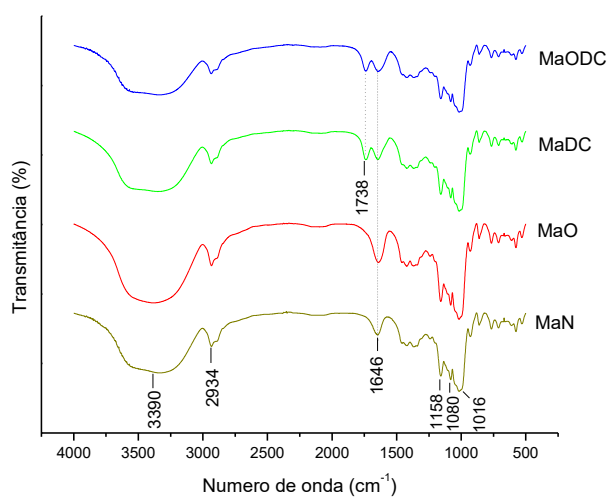
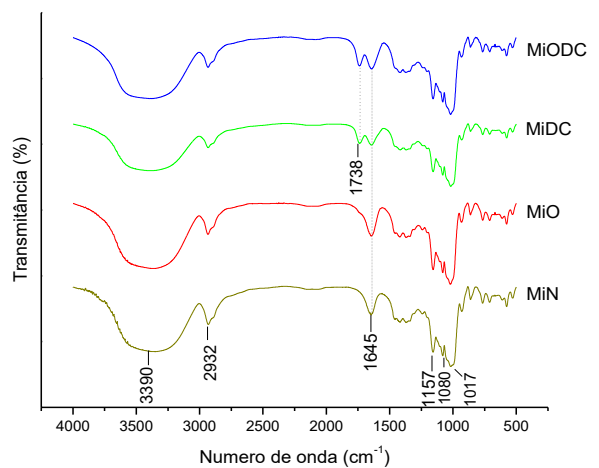
5.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR)

A espectroscopia de FTIR foi empregada com o objetivo de observar diferenças estruturais nas amostras de amidos após processo de termoconversão na presença de ácido cítrico. Os espectros de infravermelho dos amidos nativos e dos amidos modificados são mostrados na Figura 8. Todas as amostras apresentaram picos de absorção característicos próximos às regiões 1016, 1080, 1158, 1646, 2933 e 3390 cm^{-1} . A região de 3390 cm^{-1} corresponde à vibração dos grupos hidroxilas O-H (DIOP et al., 2011). Os picos em 2933 cm^{-1} e 1646 cm^{-1} são atribuídos à vibração de alongamento C-H da molécula de amido e à água (H_2O) fortemente ligada no amido, respectivamente. O pico localizado em 1158 cm^{-1} refere-se à vibração de alongamento de C-O-C. Os picos em 1080 cm^{-1} e 1017 cm^{-1} referem-se à posição de alongamento da ligação C-O (ZUO et al., 2013; DIOP et al., 2011).

Os amidos nativos e oxidados não apresentaram bandas de grupos funcionais adicionais, enquanto que nas amostras submetidas à dextrinização com ácido cítrico foi observada a presença de uma nova banda de absorção em 1738-1740 cm^{-1} que é atribuída ao alongamento da carbonila (C=O) do grupo éster (DIOP et al., 2011; XU et al., 2004; JAYAKUMAR et al., 2000), sugerindo que houve a esterificação das amostras tratadas com o referido ácido orgânico. Zuo et al. (2013) modificaram amido de milho com anidrido maleico e confirmaram a esterificação ao observaram o aparecimento de uma banda de absorção em 1720 cm^{-1} que os autores atribuíram ao

alongamento éster C=O. Outros estudos também relatam a presença dessa banda em dextrina de milho esterificada com anidrido octenilsuccinico (LEI et al., 2014) e em amido de mandioca esterificado com ácido cítrico (MEI et al., 2015).

Figura 8 Espectros no FTIR dos amidos de milho, mandioca e batata nativos (MiN, MaN, BaN) e dos seus respectivos amidos modificados: oxidados com hipoclorito de sódio (MiO, MaO, BaO), dextrinizados com ácido cítrico (MiDC, MaDC, BaDC) e duplamente modificados por oxidação e dextrinização (MiODC, MaODC, BaODC).



Fonte: Autoria própria.

5.1.4 Teor de amilose

A determinação do teor de amilose é um importante parâmetro na caracterização de amido, considerando que a sua composição e organização macromolecular estão diretamente relacionadas à sua funcionalidade (PERONI et al., 2006; GÉRARD et al. 2001). A Tabela 3 apresenta os resultados encontrados na determinação do teor de amilose dos amidos nativos e seus respectivos amidos modificados.

Os amidos nativos de mandioca, milho e batata apresentaram 20,66; 23,86 e 25,22 % de amilose, respectivamente. De acordo com Rolland-Sabaté et al. (2012) os teores de amilose em amidos dependem da fonte botânica e da variedade genotípica. Sandhu e Singh (2007) encontraram de 16,9 a 21,3 % de amilose em diferentes variedades de amido de milho, valores estes que foram inferiores ao reportado por Weber et al. (2009) que encontraram valores entre 25-28 %. Resultado semelhante ao do amido de mandioca foi relatado por Franco et al. (2010) que encontraram 20,47%; e coerência ao teor de amilose para o amido de batata foi reportado por Kim et al. (1995) e Wiesenbom et al. (1994) que obtiveram valores entre 23 a 31%.

As modificações químicas dos amidos promoveram uma redução do teor de amilose em todas as fontes botânicas estudadas. Para as amostras dextrinizadas com ácido cítrico, notou-se (Tabela 3) uma diminuição do conteúdo de amilose comparado aos dos respectivos amidos nativos, indicando que houve a degradação das macromoléculas durante o processo de dextrinização. A hidrólise catalisada em meio ácido ocorre, principalmente, na região amorfa dos grânulos de amido devido a maior acessibilidade ocasionada pela predominância da molécula de amilose nesta região (NADIHA et al., 2010; SANDHU et al., 2008; ATICHOKUDOMCHAI et al., 2000; KAINUMA; FRENCH, 1971). Assim, acredita-se que as cadeias de amilose são hidrolisadas a tamanhos menores, dificultando sua complexação com o iodo, o que justifica a redução encontrada nos teores de amilose após o processo de termoconversão em meio ácido.

Durante a reação de oxidação dos grupos hidroxilas de amido a grupos carbonilas e/ou carboxilas ocorre concomitantemente uma degradação das moléculas do polímero pela quebra das ligações α -1,4 glicosídicas (WURZBURG, 1986). Sabe-se que a oxidação ocorre principalmente nas regiões amorfas dos grânulos de amido;

e sendo a cadeia linear de amilose depositada sobretudo nessas regiões, a amilose é mais susceptível à oxidação e despolimerização (KUAKPETOON; WANG, 2006; WANG, 2003). Diante disso, observa-se que as amostras de milho, mandioca e batata oxidadas foram realmente degradadas, com reduções do teor de amilose de 11,21, 12,91 e 13,70%, respectivamente, em relação aos seus amidos nativos. Segundo Kuakpetoon e Wang (2001), amidos de tubérculos são mais facilmente oxidados que amidos de cereais, o que está coerente com os resultados do presente estudo. Hizukuri et al. (1981) também obtiveram maior despolimerização do amido de batata comparado aos amidos de milho e de arroz.

Ao analisar os resultados da Tabela 3, verifica-se ainda que os amidos oxidados e dextrinizados (MiODC, MaODC e BaODC) foram os que apresentaram maior redução do teor de amilose, indicando que a modificação dupla conduz a uma maior degradação das macromoléculas de amido.

Tabela 3 Teor de amilose e viscosidade intrínseca dos amidos modificados e seus respectivos amidos nativos.

Amostra	Teor de amilose (%)	Viscosidade intrínseca (dL.g ⁻¹)
MiN	23,86 ± 0,81 ^b	2,35 ± 0,01 ^c
MiO	12,65 ± 0,33 ^h	1,08 ± 0,01 ^e
MiDC	15,38 ± 0,67 ^d	0,37 ± 0,01 ^k
MiODC	7,26 ± 0,18 ⁱ	0,60 ± 0,01 ⁱ
MaN	20,66 ± 0,46 ^c	3,55 ± 0,01 ^b
MaO	7,75 ± 0,30 ⁱ	0,84 ± 0,01 ^f
MaDC	13,18 ± 0,34 ^{gh}	0,36 ± 0,01 ^k
MaODC	5,04 ± 0,07 ^f	0,67 ± 0,00 ^h
BaN	25,22 ± 0,43 ^a	8,89 ± 0,01 ^a
BaO	11,52 ± 0,10 ^e	1,53 ± 0,00 ^d
BaDC	14,01 ± 0,17 ^g	0,14 ± 0,00 ^j
BaODC	7,08 ± 0,09 ⁱ	0,69 ± 0,00 ^g

*valores apresentam a média ± desvio padrão; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (Tukey).

Fonte: Autoria própria.

5.1.5 Viscosidade intrínseca

A viscosidade intrínseca (η_{in}) é uma propriedade física que mede a fricção interna ou a resistência ao escoamento de moléculas poliméricas em dispersões diluídas (LEACH, 1963). Por estar intimamente relacionada ao peso molecular dos polímeros, a viscosidade intrínseca vem sendo utilizada como um excelente critério na investigação dos efeitos do processo de modificação sobre a degradação da molécula de amido (PIETRZYK et al., 2014).

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a viscosidade intrínseca dos amidos de milho, mandioca e batata nativos e modificados. Os valores de viscosidade intrínseca encontrados para os amidos nativos de milho, mandioca e batata apresentaram diferenças aos reportados na literatura. Plata-Oviedo e Camargo (1999) encontraram 2,57 dL.g⁻¹ para o amido nativo de mandioca. Enquanto que Cunningham (1996) encontrou 2,43 dL.g⁻¹ para o amido de milho nativo e Pietrzyk et al. (2018) obtiveram 2,50 dL.g⁻¹ para o de batata nativa. As diferenças nos valores da viscosidade intrínseca dos amidos nativos podem estar relacionadas às metodologias de análise, bem como às variedades genotípicas dentro de uma mesma espécie botânica (CEREDA, 2002) que diferem quanto ao tamanho e à configuração molecular dos grânulos de amido (AHMAD et al., 1999).

Nota-se que, em todas as modificações, as amostras apresentaram viscosidade intrínseca significativamente inferior aos respectivos amidos nativos, indicando que houve degradação molecular. Durante o processo de oxidação ocorre a despolimerização das cadeias de amido, resultando na redução do peso molecular das moléculas. Diminuição da viscosidade intrínseca de amidos oxidados também foi reportado por Martinez-Bustos et al. (2007) ao oxidarem amidos de mandioca e de batata com ácidos orgânicos. Os resultados dessa pesquisa sugerem que o amido de batata foi mais susceptível a degradação oxidativa observando maior queda da viscosidade intrínseca.

Os amidos dextrinizados com ácido cítrico (MiDC, MaDC, BaDC) apresentaram diminuições nos valores de viscosidade intrínseca mais acentuados do que os obtidos para as amostras oxidadas (MiO, MaO, BaO). Essa redução ocorreu devido à hidrólise das macromoléculas ocasionada pela termoconversão do amido na presença de ácido cítrico. Resultado semelhante foi obtido por Shi et al. (2007) ao obterem amidos termoplásticos com uma mistura de glicerol e ácido cítrico. Hirashima et al. (2004) investigaram os efeitos do ácido cítrico na viscosidade intrínseca de amidos de milho e reportaram que ocorreu uma diminuição de 1,80 para 1,00 dL.g⁻¹.

Outros autores também relataram efeitos similares após a modificação de amidos com ácidos orgânicos (MAJZOBI; BEPARVA, 2014; PLATA-OVIEDO; CAMARGO, 1999).

Diante disso, esperava-se que ao dextrinizar os amidos oxidados com ácido cítrico resultaria em valores de viscosidade intrínseca ainda menores. Entretanto, verifica-se que ocorreu um aumento comparado às amostras dextrinizadas, para todas as fontes botânicas estudadas. Esse fato sugere uma possível reação de intercruzamento entre o amido e o ácido cítrico nas amostras MiODC, MaODC e BaODC, originando moléculas com geometria mais complexa que dificultam o fluxo de escoamento do solvente e conduzem o aumento na viscosidade intrínseca.

5.1.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A modificação de amidos envolve fenômenos físicos e químicos que podem alterar a superfície de contato dos grânulos de amidos e, nestes casos, a microscopia desempenha um papel importante na compreensão das diferenças na morfologia granular dos amidos modificados (SINGH et al., 2007). Neste sentido, a microscopia foi utilizada para avaliar os efeitos da dextrinização e da oxidação sobre a morfologia dos grânulos dos amidos. As Figura 9, 10 e Figura 11 apresentam, respectivamente, as micrografias dos grânulos de amidos de milho, mandioca e batata (nativos e modificados), nas ampliações 1000x.

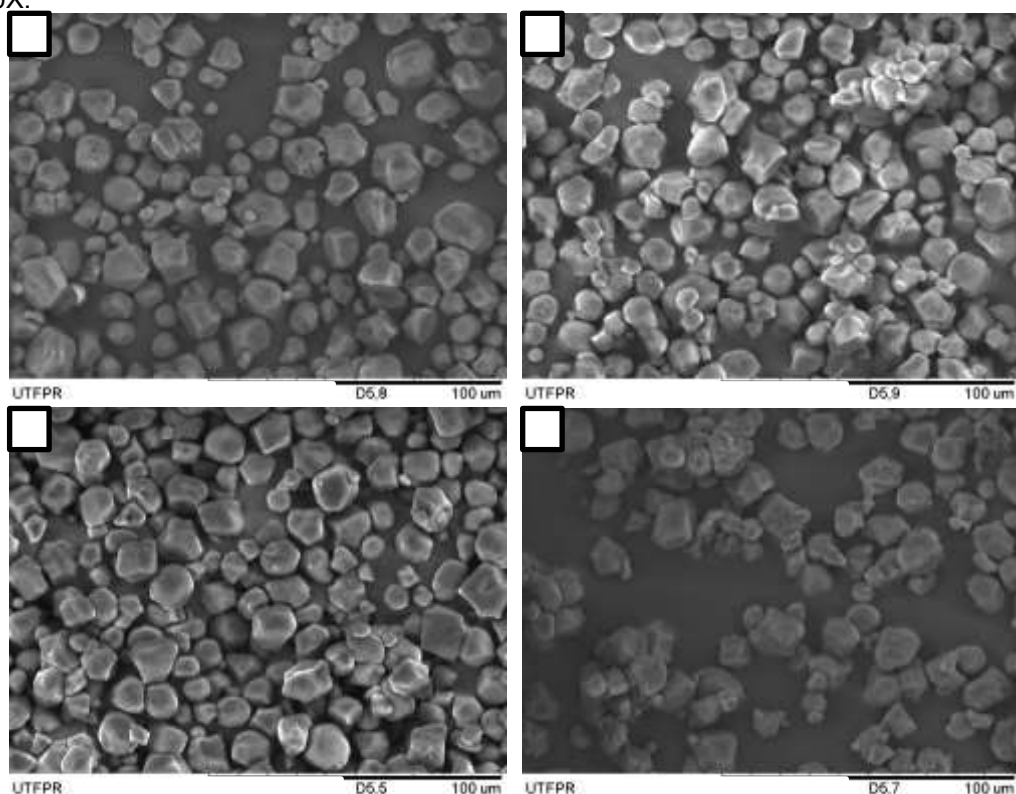
O formato dos amidos nativos observadas neste estudo foi semelhante ao descrito em outros estudos. Os grânulos de amido de milho nativo apresentaram formas poliédricas e arredondadas (WEBER et al., 2009). Os amidos de mandioca apresentaram formato circular e alguns côncavo-convexos com superfícies lisas (BREUNINGER et al., 2009) e os de batata predominaram formas lisas e ovais (LIZARAZO et al., 2015).

Observou-se uma exo-erosão nas superfícies dos grânulos nos tratamento de dextrinização e oxidação-dextrinização, o que indica que a dextrinização foi a responsável pela erosão da superfície dos grânulos. Além disso, a intensidade da exo-erosão é bem evidente no amido de batata, enquanto que nos amidos de milho e de mandioca é leve. Entretanto, Xie et al. (2006) verificaram mudanças na morfologia dos grânulos de amido de milho normal tratados com ácido cítrico. Esses autores relatam ainda que em amidos de milho com alto teor de amilose ocorreu reação de

intercruzamento, o que preservou a estrutura granular. Isso mostra que possivelmente os amidos de milho e de mandioca dextrinizados tenderam à reação de intercruzamento, mantendo-os mais íntegros quando comparados aos de batata. Ainda, Naknaen et al. (2017) relatam que modificações nas morfologias dos grânulos de amidos dependem da arquitetura e fragilidade granular de cada fonte botânica.

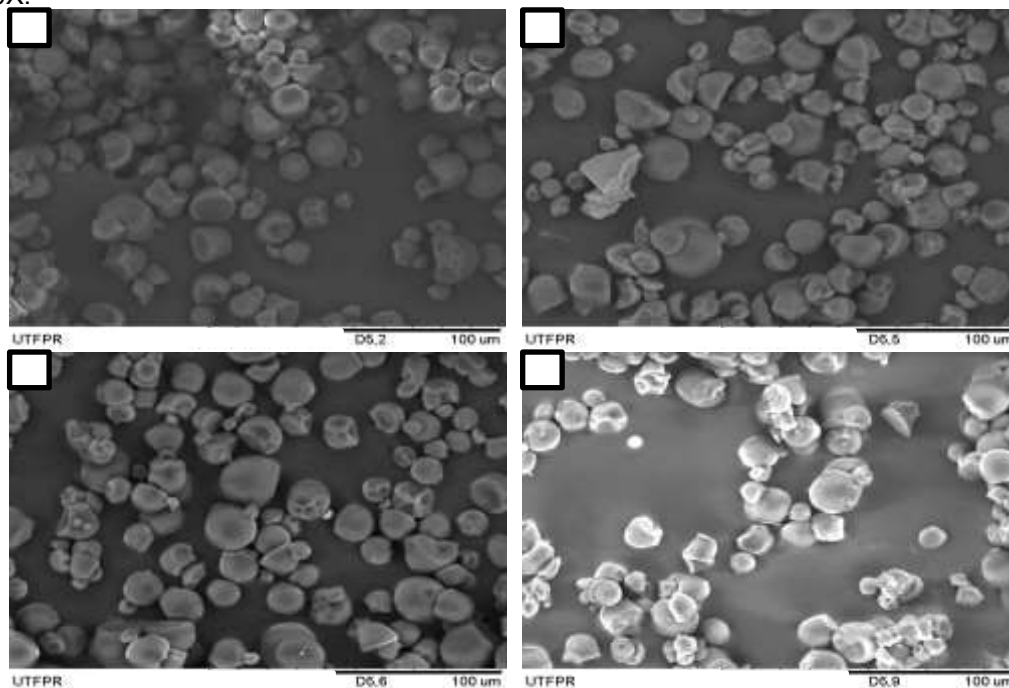
A reação de oxidação não resultou em mudanças significativas nas morfologias dos grânulos. Segundo Fonseca et al. (2015), a oxidação não afetou a forma dos grânulos de amido de batata. No entanto, outros autores mostraram que a oxidação afeta a morfologia do grânulo com a presença de poros na superfície (KUAKPETOON;WANG, 2008).

Figura 9 Micrografias dos grânulos do amido de milho nativo (a) e dos seus respectivos amidos modificados: (b) Oxidado, (c) Dextrinizado com ácido cítrico, (d) Oxidado e Dextrinizado. Magnificação de 1000X.



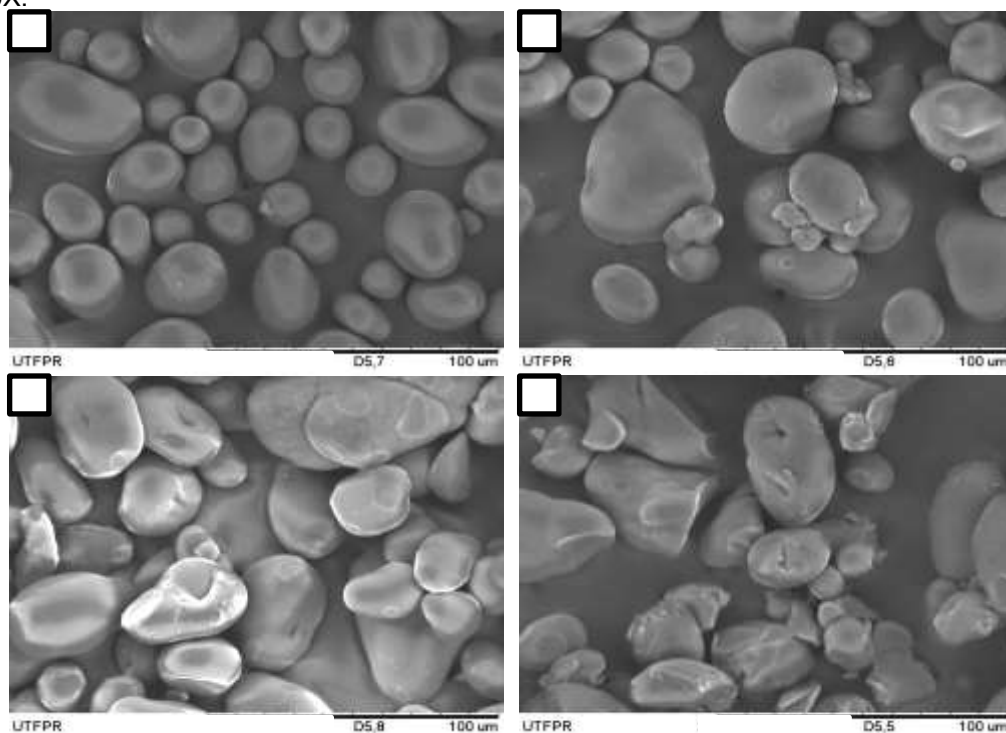
Fonte: Autoria própria.

Figura 10 Micrografias dos grânulos do amido de mandioca nativa (a) e dos seus respectivos amidos modificados: (b) Oxidado, (c) Dextrinizado com ácido cítrico, (d) Oxidado e Dextrinizado. Magnificação de 1000X.



Fonte: Autoria própria.

Figura 11 Micrografias dos grânulos do amido de batata nativa (a) e dos seus respectivos amidos modificados: (b) Oxidado, (c) Dextrinizado com ácido cítrico, (d) Oxidado e Dextrinizado. Magnificação de 1000X.



Fonte: Autoria própria.

5.1.7 Poder de inchamento e solubilidade

A Tabela 4 mostra o poder de inchamento e a solubilidade a 25 e 60°C dos amidos nativos e modificados. Para todos os amidos, o poder de inchamento e a solubilidade aumentaram com o aumento da temperatura. O poder de inchamento mede a capacidade de hidratação dos grânulos. Quando o grânulo de amido é aquecido em excesso de água, sua estrutura cristalina é rompida, devido à quebra das ligações de hidrogênio, e as moléculas de água interagem com as hidroxilas da amilose e da amilopectina. Essa interação causa o inchamento dos grânulos e parcial solubilização (HOOVER, 2001). Quanto maior a temperatura, maior mobilidade das moléculas dentro do grânulo e conseqüentemente maior penetração de água, facilitando o inchamento.

Observa-se que o tratamento do amido com ácido cítrico aumenta, significativamente, os valores de poder de inchamento e solubilidade. Tal aumento pode ser atribuído à fragmentação do grânulo e despolimerização da estrutura amilácea, bem como ao aumento da característica hidrofílica que ocorre após a dextrinização/esterificação com ácido cítrico. Geralmente, hidrolisados de amido de cadeia curta e menor peso molecular, como as dextrinas, apresentam maior solubilidade (SARIFUDIN; ASSIRY, 2014; HARPER 1992). Alta solubilidade de amidos dextrinizados com ácido tártarico foi obtido por Chin et al. (2012). García-Tejeda et al. (2014) e Murúa-Pagola et al. (2009) também verificaram um aumento no poder de inchamento e na solubilidade após esterificação de amidos de milho com anidrido acético e anidrido octenilsuccínico, respectivamente.

Dentre os amidos oxidados com hipoclorito de sódio, também se verifica aumento do poder de inchamento e da solubilidade em relação aos amidos nativos, independentemente da fonte botânica. Resultado semelhante foi obtido por Naknaen et al. (2017) ao oxidarem amidos de semente de jaca com altas concentrações de NaClO 4-5%. Esse aumento pode ser atribuído à grupos carboxilas introduzidos na oxidação. Acredita-se que a repulsão entre grupos carboxilas de cadeias adjacentes contribui para o aumento da hidratação, elevando o poder inchamento (LAWAL; ADEBOWALE, 2005; LAWAL, 2004). O aumento na solubilidade após a oxidação foi devido à desintegração e enfraquecimento estrutural do grânulo de amido (CHONG et al., 2013). Lawal e Adebowale (2005) também descobriram que o aumento na solubilidade era provavelmente influenciado pela lixiviação das regiões amorfas dos

grânulos de amido. A despolimerização de cadeias de amido, particularmente em concentrações mais altas de cloro ativo, causou um aumento na solubilidade.

Os perfis de inchamento e de solubilidade indicam a organização e as forças de ligação no interior do grânulo de amido, onde menores valores sugerem maior organização intra-granular (NWOKOCHA et al., 2009). Todas as amostras duplamente modificadas (MiODC, MaODC, BaODC) exibiram menores poder de inchamento e solubilidade em relação às dextrinas (MiDC, MaDC, BaDC). Suspeita-se que nestas amostras tenha ocorrido uma reação de intercrossamento entre o ácido cítrico e as hidroxilas do amido. É bem conhecido que o intercrossamento reforça a ligação entre as moléculas de amido, causando um aumento na resistência dos grânulos ao inchaço e a diminuição da solubilidade (LIU et al., 2014; SINGH et al., 2007) uma vez que reduz a mobilidade das moléculas do amido atenuando sua interação com água (CHIU; SOLAREK, 2009; SINGH et al., 2007).

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Mei et al. (2015) ao intercrossarem amido de mandioca com ácido cítrico em diferentes concentrações (10, 20, 30 e 40% em relação ao amido) observaram diminuição no poder de inchamento e solubilidade dos amidos citratos. Também, Dastidar e Netravali (2012) relatam que a esterificação dos amidos de batata e milho com ácido malônico (15-50% em relação ao amido) diminuiu o poder de inchamento dos amidos que os autores a relacionaram com o intercrossamento dos amidos.

Tabela 4 Poder de inchamento e solubilidade a 25°C e 60°C dos amidos modificados e seus respectivos amidos nativos.

Amostra	Poder de inchamento (g.g ⁻¹)		Solubilidade (%)	
	25°C	60°C	25°C	60°C
MiN	2,32 ± 0,04 ^d	3,95 ± 0,04 ^d	1,13 ± 0,03 ^k	4,00 ± 0,10 ^j
MiO	2,86 ± 0,05 ^g	10,38 ± 0,03 ^{gh}	2,93 ± 0,06 ⁱ	18,83 ± 0,68 ^c
MiDC	5,52 ± 0,02 ^b	6,01 ± 0,18 ^f	8,87 ± 0,12 ^c	10,20 ± 0,30 ^f
MiODC	3,16 ± 0,02 ^f	4,64 ± 0,05 ^c	4,17 ± 0,06 ^g	7,87 ± 0,06 ^h
MaN	2,54 ± 0,02 ^c	5,41 ± 0,13 ^b	1,23 ± 0,03 ^k	4,43 ± 0,06 ^{ij}
MaO	2,96 ± 0,01 ^b	10,78 ± 0,06 ^{gh}	4,57 ± 0,06 ^f	20,10 ± 0,10 ^b
MaDC	5,72 ± 0,05 ^e	7,85 ± 0,20 ^e	9,27 ± 0,06 ^b	11,57 ± 0,06 ^e
MaODC	3,22 ± 0,02 ^f	6,23 ± 0,28 ^f	5,23 ± 0,06 ^e	8,47 ± 0,06 ^{gh}
BaN	2,87 ± 0,02 ^g	7,44 ± 0,39 ^e	1,43 ± 0,03 ^j	4,97 ± 0,12 ⁱ
BaO	2,96 ± 0,04 ^g	10,94 ± 0,28 ^g	3,42 ± 0,06 ^h	23,10 ± 0,66 ^a
BaDC	8,27 ± 0,04 ^a	10,33 ± 0,17 ^h	9,57 ± 0,12 ^a	13,57 ± 0,12 ^d
BaODC	5,68 ± 0,08 ^e	8,55 ± 0,08 ^a	6,43 ± 0,06 ^d	8,80 ± 0,10 ^g

*valores apresentam a média ± desvio padrão; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*).

Fonte: Autoria própria.

5.1.8 Difractometria de raios X (DRX) e cristalinidade relativa (CR)

A difratometria de raios X tem sido bastante empregada para revelar características da estrutura cristalina de amidos e também para verificar se ocorreu alguma alteração na cristalinidade dos grânulos após alguma modificação química (ZHOU et al., 2016a).

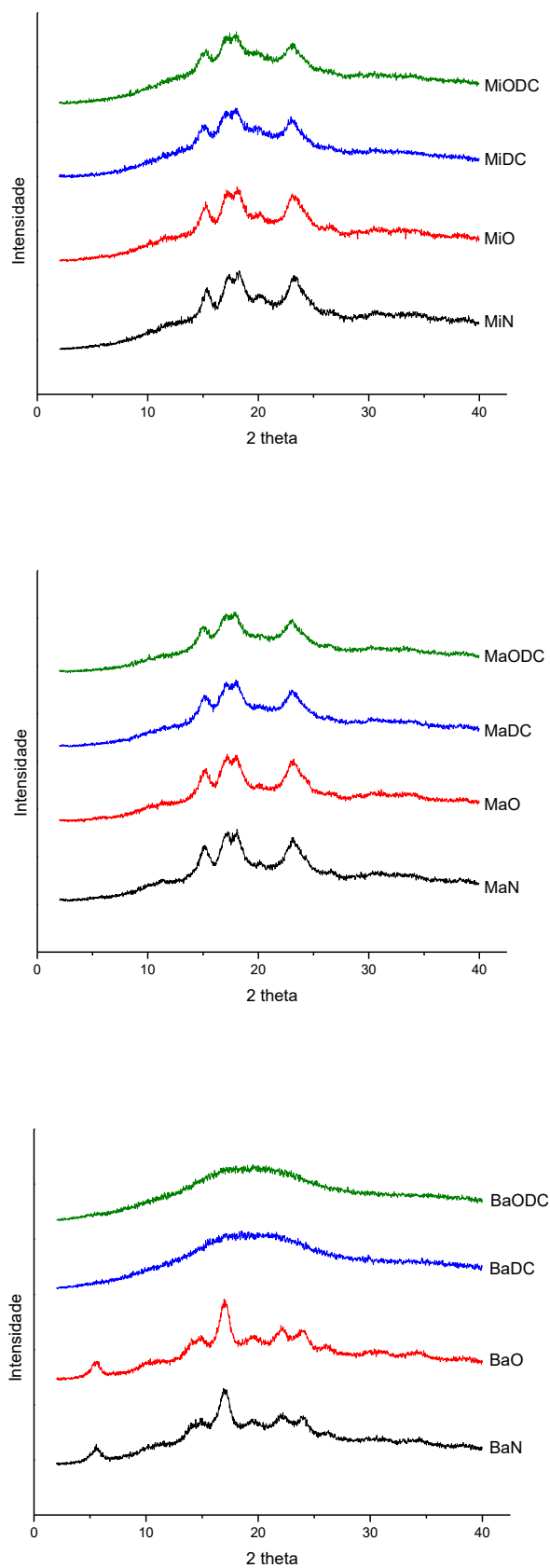
A região cristalina do grânulo é formada pelas cadeias laterais de amilopectina, enquanto que a região amorfa é composta por amilose e ramificações de amilopectina. Assim, a cristalinidade do grânulo está, principalmente, relacionada com o arranjo de duplas hélices formadas pelas cadeias de amilopectina (HOOVER, 2001). A cristalinidade dos grânulos varia entre 15-45% e pode ser caracterizada em três principais padrões de difração, os tipos A, B e C (YONEMOTO, 2006). O padrão cristalino tipo A apresenta picos singletos em 2θ a 15° e 23°, e um dubleto a 17° e 18°, o padrão tipo B se caracteriza por picos singletos em 2θ a 5,6° e 17°, e um dubleto em 22° e 24°, e o padrão tipo C é uma mistura dos padrões A e B (PEPE, 2011).

Os difratogramas dos amidos modificados e dos seus respectivos amidos nativos são apresentados na Figura 12. O amido nativo de milho, assim como seus amidos modificados (MiO, MiDC e MiODC), apresentaram padrão cristalino tipo A, com picos de difração em 2θ a 15° , 17° , 18° e 23° . Este padrão cristalino também foi observado por McPherson et al. (2000) e Jiugao et al. (2005) ao analisarem amido regular de milho por DRX. Da mesma forma, o amido de mandioca e seus respectivos amidos modificados também apresentaram picos de difração característicos do tipo A. Outros trabalhos evidenciaram o mesmo padrão cristalino para este amido (SANGUANPONG et al., 2003; FERRINI, et al., 2008; ROCHA et al., 2010). Já o amido de batata apresentou pico cristalino tipo B, com picos de difração em 2θ a 5.5° , 14.8° , 17° , 19.3° , 22° e 24° , resultado semelhante ao obtido por Lee et al. (2018).

Verifica-se que para os amidos de milho e de mandioca, todas as modificações químicas realizadas não alteraram o padrão de difração, apenas diminuíram a intensidade dos picos. Entretanto, a dextrinização com ácido cítrico e a modificação dupla romperam a estrutura cristalina dos grânulos do amido de batata (BaDC e BaODC), apresentando apenas um pico largo centrado em $2\theta \approx 20^\circ$, que é típico de um amido totalmente amorfo (FARHAT et al., 2000; ZHOU et al., 2016a). Esse comportamento anômalo do amido de batata se deve às variações entre as diversas fontes botânicas quanto ao tamanho dos cristais e na orientação das duplas hélices, bem como no comprimento médio das cadeias de amilopectina (GUNARATNE; HOOVER 2002; HOOVER; RATNAYAKE 2002).

Como resultado da diminuição na intensidade dos picos de difração, a cristalinidade relativa dos amidos modificados foi reduzida em relação aos respectivos amidos nativos, em todas as fontes de amido estudadas, como pode ser observado na Tabela 5.

Figura 12 Difratomogramas de raios X dos amidos nativos e seus respectivos amidos modificados.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 Cristalinidade relativa (CR) dos amidos modificados e de seus respectivos amidos nativos.

Amostra	CR (%)
MiN	32,53 ± 0,71 ^c
MiO	28,70 ± 0,56 ^d
MiDC	24,73 ± 0,38 ^{gh}
MiODC	23,60 ± 0,30 ^h
MaN	34,13 ± 0,12 ^a
MaO	32,47 ± 0,45 ^c
MaDC	26,23 ± 0,31 ^{ef}
MaODC	25,60 ± 0,53 ^{fg}
BaN	30,40 ± 0,70 ^b
BaO	27,33 ± 0,35 ^{de}
BaDC	-
BaODC	-

*valores apresentam a média ± desvio padrão; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*).

Fonte: Autoria própria.

Sabe-se que, com a dextrinização, há redução do teor de amilose e hidrólise dos pontos de ramificação que constituem as regiões amorfas. Ao mesmo tempo, observa-se que a esterificação com ácido orgânico ocasiona, possivelmente, um rearranjo molecular na estrutura da dextrina, levando ao enfraquecimento das regiões internas do grânulo, que resulta a uma diminuição da cristalinidade (ALMEIDA, 2016). Isto é, além de hidrolisar as regiões amorfas, a dextrinização do amido na presença de ácido cítrico desestruturou a região cristalina afetando as cadeias da amilopectina responsáveis pelo empacotamento das duplas hélices.

Xie e Liu (2004) reportaram que a cristalinidade dos amidos de milho regular, ceroso e de alto teor de amilose diminuíram após tratamento com ácido cítrico. Mei et al. (2015) verificaram que a esterificação do amido de mandioca com ácido cítrico não alterou o padrão cristalino, porém, houve redução da CR com o aumento da concentração do ácido.

A oxidação com hipoclorito de sódio em concentração de 6% conduziu a uma diminuição da cristalinidade relativa para todas as fontes botânicas. Isto é, tanto a região amorfa como a região cristalina foram afetadas após serem tratadas com cloro ativo. Estudos anteriores relatam que maiores concentrações de cloro ativo (≥5%) causam uma maior despolimerização das cadeias de amilopectina (KUAKPETOON; WANG, 2006; CHÁVEZ-MURILLO et al., 2008; ZHOU et al., 2016b).

As amostras duplamente modificadas também apresentaram uma redução da cristalinidade relativa comparada aos respectivos amidos nativos. Entretanto, as amostras oxidadas e a seguir dextrinizadas com ácido cítrico, MiODC e MaODC, não apresentaram diferença significativa em relação às respectivas amostras dextrinizadas com ácido cítrico (MiDC e MaDC). Apesar dos tratamentos individuais diminuírem a CR, não foi observado um efeito acumulativo. Isso mostra que a oxidação facilita a reação de dupla esterificação com ácido cítrico do amido tratado com hipoclorito preservando a região cristalina. Evidências dessa hipótese são os maiores valores de viscosidade intrínseca e maiores teores de esterificação dos amidos duplamente modificados em relação aos amidos modificados com ácido cítrico.

5.1.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) tem sido uma técnica bastante utilizada para análise térmica de amidos, e que fornece informações sobre o fenômeno de ordem-desordem que ocorre durante o aquecimento dos grânulos de amido em soluções aquosas (BENINCA, 2008). À temperatura ambiente, o amido nativo é insolúvel em água, porém quando aquecido na presença de água sua organização semicristalina é rompida e se obtém uma dispersão amorfa, de menor organização. Essa transição de fase é conhecida como gelatinização e é observada como uma curva endotérmica nas análises de DSC. A partir dessa endoterma de gelatinização é que se obtém os parâmetros térmicos envolvidos no processo. (NAKNAEN et al., 2017; LEONEL et al., 2015; RATNAYAKE, JACKSON, 2009).

A Tabela 6 apresenta os parâmetros térmicos de gelatinização dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos oxidados que foram determinados com base nos perfis endotérmicos representados na Figura 13.

Os resultados térmicos obtidos para os amidos nativos de milho, mandioca e batata bem como para os amidos oxidados diferem aos reportados na literatura Kuakpetoon e Wang (2006) obtiveram uma temperatura de gelatinização de pico correspondente à 73,2°C para o amido de milho nativo que reduziu para 70,5°C ao oxidar com 5% de NaOCl; a entalpia de gelatinização também diminuiu de 13,83 para 12,74 J/g. Sangseethong et al. (2009) ao estudarem as propriedades físico-químicas de amidos de mandioca oxidados com NaOCl em diferentes níveis de alcalinidade, verificaram diminuições nos valores de ΔH_{gel} (de 17,40 para 15,14 J/g) em pH

reacional de 8,0. Fonseca et al. (2015) estudaram amidos de batata oxidados com diferentes concentrações de hipoclorito, cuja entalpia de gelatinização do amido nativo foi de 14,50 J/g. Uma vez que o processo de gelatinização é dependente da microestrutura, do grau de cristalinidade e da composição do grânulo (SANDHU et al., 2008; SINGH et al., 2003), diversas variedades genotípicas dos amidos nativos e diferentes tratamentos oxidativos podem resultar em amidos com organizações e composições diferentes.

Tabela 6 Parâmetros térmicos de gelatinização dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos oxidados.

Amostra	T _i (°C)	T _p (°C)	T _f (°C)	ΔH _{gel} (J/g)
MiN	63,73 ± 0,06 ^a	69,23 ± 0,09 ^a	73,53 ± 0,32 ^a	8,78 ± 0,31 ^d
MiO	59,86 ± 0,12 ^b	67,00 ± 0,06 ^b	72,56 ± 0,40 ^a	8,55 ± 0,27 ^{de}
MaN	59,16 ± 0,32 ^c	66,65 ± 0,14 ^c	73,43 ± 0,47 ^a	11,43 ± 0,27 ^b
MaO	52,73 ± 0,12 ^e	60,05 ± 0,09 ^e	67,86 ± 0,32 ^c	7,66 ± 0,33 ^e
BaN	56,33 ± 0,38 ^d	61,95 ± 0,02 ^d	70,00 ± 0,35 ^b	13,51 ± 0,54 ^a
BaO	50,25 ± 0,06 ^f	54,24 ± 0,14 ^f	59,75 ± 0,21 ^d	6,68 ± 0,21 ^c

*valores apresentam a média ± desvio padrão; médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*). T_i= temperatura inicial de gelatinização; T_p= temperatura de pico; T_f=temperatura final de gelatinização; ΔH_{gel} é referente à entalpia de gelatinização.

Fonte: Autoria própria.

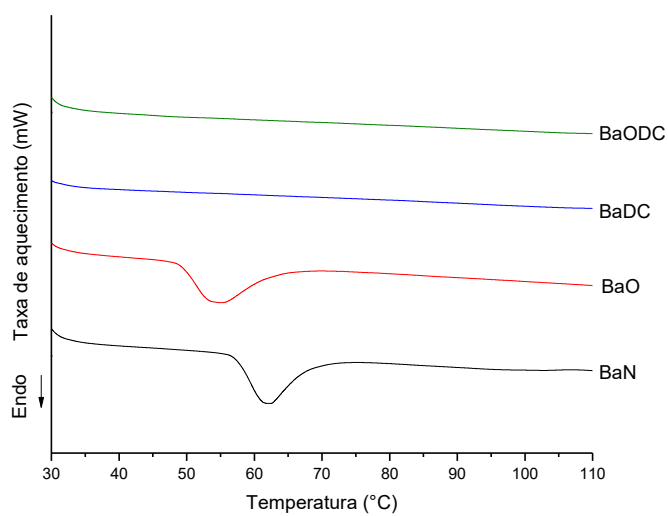
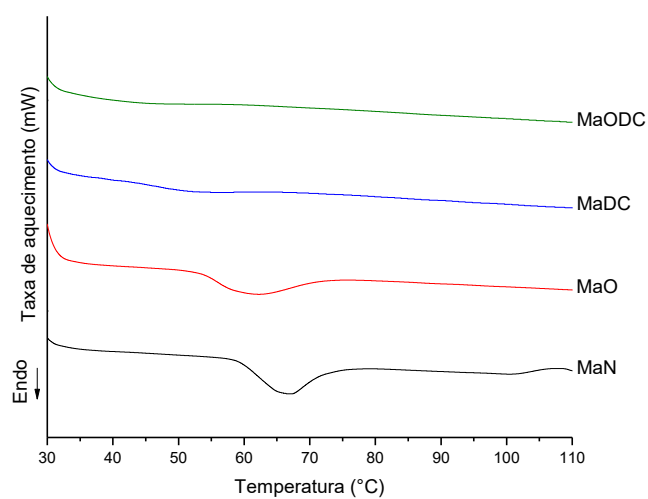
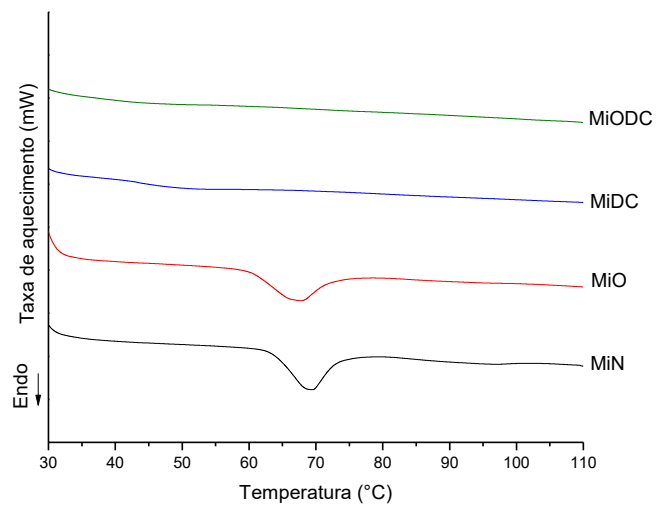
A partir da Tabela 6, verifica-se que todos os parâmetros térmicos dos amidos oxidados com hipoclorito de sódio foram menores do que seus respectivos amidos nativos. Essa diminuição ocorre devido ao enfraquecimento dos grânulos de amido após tratamento oxidativo, e resulta na ruptura prematura das duplas hélices de amilopectina (VANIER et al., 2017; ADEBOWALE et al., 2006). Além da degradação do amido, a oxidação por hipoclorito introduz altas quantidades de grupos carboxílicos nas moléculas de amido. A carga negativa desses grupos facilita a absorção de água e hidratação. Isso contribui para o enfraquecimento do grânulo, resultando na sua gelatinização em temperaturas mais baixas e diminuição da entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}), uma vez que esta indica a energia necessária para gelatinizar o amido (NAKNAEN et al., 2017; SANGSEETHONG et al., 2010).

Wang e Wang (2003) reportaram que em altas concentrações hipoclorito de sódio (acima de 5% de cloro ativo), ocorre uma diminuição na temperatura inicial de

gelatinização em amidos de milho. Em outros estudos com amido de milho (SANDHU et al., 2008), mandioca (SANGSEETHONG et al., 2010) e batata (FONSECA et al., 2015) oxidados com hipoclorito, os autores também encontraram uma redução nos parâmetros térmicos quando comparados aos respectivos amidos nativos.

A Figura 13 representa o perfil térmico dos amidos nativos e seus respectivos amidos modificados. Observa-se que as dextrinas e os amidos duplamente modificados, de todas as fontes botânicas estudadas, não apresentaram endoterma de gelatinização no intervalo de 30 a 110° C, não havendo transição de fase, indicando a não existência da região cristalina formada pelas duplas helices das cadeias laterais de amilopectina (COOKE; GIDLEY, 1992) e, portanto, não foi possível determinar os parâmetros de gelatinização das mesmas. No entanto, os difractogramas dos amidos de milho e mandioca duplamente modificados preservaram o tipo de difractograma de origem, mostrando que são parcialmente cristalinos. A cristalinidade no material é determinada no estado sólido enquanto que a avaliação das propriedades térmica por DSC é realizado em meio aquoso com fluxo de calor. O fenômeno pode ser interpretado que em meio aquoso com a aplicação de calor as regiões cristalinas seriam solubilizadas e não se observaria a transição de fase. A solubilidade dos amidos duplamente modificados foi 100% maior em relação aos respectivos amidos nativos e se encontram esterificados, possuindo cargas negativas, na região cristalina (diminuição da cristalinidade relativa). Os grupos citratos poderiam agir como facilitadores da penetração de água e ao mesmo tempo agirem como fundentes das regiões cristalinas.

Figura 13 Perfil térmico dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados.



Fonte: Autoria própria.

Os difratogramas dos amidos de batata de dextrinizado com ácido cítrico (BaAC) e oxidado-dextrinizado (BaODC) mostram que os tratamentos destruíram a região cristalina e conseqüentemente a colorimetria diferencial de varredura não iria registrar a transição de fase visto que esses amidos só apresentam uma única região: a amorfa.

Alguns autores verificaram que a dextrinização/esterificação resulta na despolimerização do amido afetando, inclusive, as regiões cristalinas do grânulo de amido, e que por isso as dextrinas não apresentaram processo endotérmico de gelatinização (SINGH et al., 2007; LAURENTIN et al., 2003). Mei et al. (2015) observaram uma redução nos parâmetros térmicos após a dextrinização do amido de mandioca com ácido cítrico. Os autores reportaram que a endoterma de gelatinização diminuiu gradualmente, ou mesmo desapareceu, com o aumento do GS, indicando que a reação de esterificação afeta a cristalinidade do amido. Xie; Liu (2004) também utilizaram ácido cítrico para esterificar amidos de milho e não verificaram processo de gelatinização do grânulo.

5.1.10 Propriedades de pasta (RVA)

As propriedades de pasta fornecem um método eficaz para relacionar a funcionalidade do amido com suas características estruturais e são comumente medidas por um RVA (Rapid Visco-Analyzer) (NAKNAEN et al., 2017; VANIER et al., 2012; SANGSEETHONG et al., 2010). Assim, tais propriedades são analisadas pelas mudanças que ocorrem na viscosidade durante o aquecimento de pastas de amido (FONSECA et al., 2015). Os parâmetros medidos incluíram temperatura de pasta (TP), viscosidade de pico (VP), viscosidade mínima (VM) e viscosidade final (VF). A viscosidade de quebra ou *breakdown* (VQ) e a tendência à retrogradação ou *setback* (TR) foram calculados utilizando as fórmulas $VQ = VP - VM$ e $TR = VF - VM$, respectivamente (ZHOU et al., 2016b). As condições das análises de RVA (concentração das pastas e programação de temperatura) foram as mesmas tanto para os amidos nativos quanto para todos os amidos modificados nesse estudo. As propriedades de pasta dos amidos nativos e modificados podem ser visualizadas na Tabela 7 e os perfis viscoamilográficos destes amidos estão representados pela Figura 14 em Apêndice B.

Tabela 7 Propriedades de pasta dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados.

Amostra	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade (cP)				Tendência à retrogradação (TR)
		Pico (VP)	Mínima (VM)	Final (VF)	Quebra (VQ)	
MiN	85,6 ± 0,02 ^a	2728,0 ± 5,00 ^c	1946,5 ± 3,50 ^a	2789,5 ± 5,50 ^c	781,5 ± 1,50 ^{de}	843,0 ± 2,00 ^c
MiO	70,1 ± 0,05 ^d	1346,5 ± 9,50 ^e	244,0 ± 9,00 ^c	447,5 ± 11,50 ^b	1102,5 ± 18,50 ^d	203,5 ± 2,50 ^d
MiDC	ND	21,0 ± 1,00 ^g	19,0 ± 1,00 ^d	22,0 ± 0,00 ^e	4,0 ± 1,00 ^f	2,0 ± 1,00 ^e
MiODC	ND	25,0 ± 3,00 ^g	21,0 ± 2,00 ^d	23,0 ± 3,00 ^e	2,0 ± 2,00 ^f	4,0 ± 1,00 ^e
MaN	70,6 ± 1,25 ^d	4873,5 ± 32,50 ^b	1708,0 ± 52,00 ^b	2826,0 ± 11,00 ^c	3165,5 ± 19,50 ^b	118,0 ± 41,00 ^b
MaO	62,7 ± 0,03 ^b	611,0 ± 2,00 ^f	18,5 ± 0,50 ^d	26,00 ± 0,00 ^e	592,5 ± 2,50 ^e	7,50 ± 0,50 ^e
MaDC	ND	23,0 ± 1,00 ^g	19,0 ± 1,00 ^d	22,0 ± 1,00 ^e	4,0 ± 0,00 ^f	3,0 ± 0,00 ^e
MaODC	ND	25,0 ± 1,00 ^g	22,0 ± 1,00 ^d	27,0 ± 2,00 ^e	4,0 ± 1,00 ^f	6,0 ± 2,00 ^e
BaN	67,8 ± 0,05 ^d	12688,5 ± 102,50 ^a	1594,0 ± 112,00 ^b	3823,5 ± 99,5 ^a	11094,5 ± 214,5 ^a	229,5 ± 12,50 ^a
BaO	51,9 ± 0,00 ^c	1650,0 ± 3,00 ^d	188,0 ± 4,00 ^{cd}	193,0 ± 5,00 ^d	1462,0 ± 7,00 ^c	5,00 ± 1,00 ^e
BaDC	ND	24,0 ± 0,00 ^g	20,0 ± 1,00 ^d	24,0 ± 1,00 ^e	5,0 ± 1,00 ^f	4,0 ± 0,00 ^e
BaODC	ND	37,0 ± 1,00 ^g	33,0 ± 1,00 ^d	43,0 ± 0,00 ^{de}	4,0 ± 1,00 ^f	10,0 ± 1,00 ^e

*valores apresentam a média ± desvio padrão; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*).

ND: não detectado.

Fonte: Autoria própria.

A temperatura de pasta do amido nativo de milho foi de 85,6°C, enquanto que os amidos nativos de mandioca e de batata empastaram a temperaturas de 70,6 e 67,8°C, respectivamente. A temperatura de pasta fornece uma indicação da temperatura mínima necessária para cozinhar o amido, isto é, determina o início do inchamento dos grânulos (NAKNAEN et al., 2017). Uma temperatura de pasta mais alta implica em maior tempo de cozimento para o amido, ou seja, reflete em maior resistência à gelatinização do grânulo, devido a uma maior estabilidade estrutural (TESTER; MORRISON, 1990). A partir da Tabela 7, observa-se que as temperaturas de pasta diminuíram após o processo de oxidação. Vários estudos também relatam que a oxidação reduz significativamente essa temperatura (HALAL et al., 2015; SANDHU et al., 2008; KUAKPETOON, WANG, 2008). Esses autores reportam que

essa redução é uma consequência do enfraquecimento estrutural do amido e da sua desintegração causada pela despolimerização das moléculas de amido durante a reação de oxidação.

De acordo com Chavez-Murillo e colaboradores (2008), os grânulos de amidos oxidados podem inchar mais facilmente. Isso ocorre porque as forças de associação entre as moléculas no amido nativo são enfraquecidas pela repulsão eletrostática dos grupos carboxílicos adicionados pelo processo de oxidação. Assim, mais água consegue penetrar dentro dos grânulos, levando à promoção da gelatinização. Quando um número suficiente de grânulos se incham, ocorre um rápido aumento na viscosidade, conhecido como viscosidade de pico. Verificou-se uma diminuição no valor de viscosidade de pico para todos os amidos oxidados em relação aos respectivos amidos nativos. Isso pode ser atribuído à clivagem parcial das ligações glicosídicas durante a reação de oxidação, levando a uma redução no peso molecular dos amidos (VANIÉR et al., 2012). Esta rede parcialmente degradada não é resistente ao cisalhamento e a integridade dos grânulos de amido não pode ser mantida, resultando em baixas viscosidade de pico e viscosidade final. Reduções similares dessas viscosidades em amidos oxidados com hipoclorito de sódio foram observados em amido de milho (WANG, WANG, 2003; SANDHU et al., 2008), amido de mandioca (DIAS et al., 2011) e amido de batata (FONSECA et al., 2015; ZHOU et al., 2016b).

A viscosidade de quebra dos amidos oxidados foi mais baixo do que seus respectivos amidos nativos. A quebra é causada pela desintegração da estrutura granular do amido gelatinizado durante cisalhamento e aquecimento contínuo, sendo, portanto, relacionado à rigidez dos grânulos inchados (VANIÉR et al., 2017). Assim, uma menor viscosidade de quebra implica em maior estabilidade da pasta a quente (NAKNAEN et al., 2017). Lawal e Adebawale (2005) sugeriram que essa redução no valor de *breakdown* dos amidos oxidados resulta da introdução de novos grupos substituintes, pois as cargas negativas dos grupos carboxilas repelem entre si, levando ao aumento do inchamento dos grânulos de amido durante aquecimento em água. Esse alto poder de inchamento combinado com uma estrutura mais fraca facilita a quebra dos grânulos de amido. Sandhu et al. (2008) relataram que a oxidação com hipoclorito de sódio em pH 9,5 reduziu a viscosidade de quebra no amido de milho comum.

O valor de *setback* é uma medida do grau de re-associação das moléculas de amido durante o resfriamento (NAKNAEN et al., 2017). O processo de oxidação também reduziu a tendência à retrogradação dos amidos estudados. Esse comportamento foi observado em amidos de cevada (HALAL et al., 2015) e de batata (FONSECA et al., 2015) oxidados com NaOCl. A hidrofiliçidade de grupos carboxílicos e a repulsão entre eles reduzem a tendência à retrogradação (SANDHU et al., 2008). Além disso, como os grupos carbonilas e carboxilas são mais volumosos do que os grupos hidroxilas, o espaço entre as cadeias de amilose é aumentado, reduzindo a possibilidade de que as cadeias se aproximem o suficiente uma da outra para retrogradar (LIU et al., 2014).

Os amidos tratados com ácido cítrico mostraram valores baixos de viscosidade (21 a 37 cP) no início da análise de RVA, indicando um ligeiro inchamento, também corroborado na análise de poder de inchamento (25°C). Para todos os amidos citratos não foi detectado a temperatura inicial de formação de pasta e as viscosidades nos ciclos de aquecimentos se mantiveram baixas (19 a 43 cP), sendo o mais provável que os amidos dextrinizados (pH 2,0/ 10,0% de ácido cítrico) foram fortemente hidrolisados (viscosidade intrínseca 0,14 a 0,69 dL.g⁻¹) e se tornaram mais solúveis à temperatura de 60°C (7,87 a 13,57% vs 4,0 a 4,97% amidos nativos).

Em estudos anteriores, amidos de milho e de batata dextrinizados com ácido cítrico não tem desenvolvido viscosidade. Xie e Liu (2004) ao analisarem diferentes amidos de milho tratados com ácido cítrico 40% (m/m) e pH 3,5 não obtiveram curva de empastamento. Lee et al. (2018) também não obtiveram viscosidade para os amidos de batata tratados com ácido cítrico 10 e 20% (m/m) em pH 3,5 e 4,5, respectivamente. Os resultados desses pesquisadores sugerem que acima de pH 3,5 se favorece a reação de intrecruzamento com o ácido cítrico.

5.2 AVALIAÇÃO DA CLARIFICAÇÃO

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 dos amidos modificados (aniônicos) na clarificação da cerveja, três análises diretamente relacionadas à turbidez foram determinadas: medida da claridade a partir da absorção em espectrofotômetro (BRIGGS et al., 2004), determinação da concentração de proteínas

(BRADFORD, 1976) e análise do teor de compostos fenólicos (SINGLETON; ROSSI, 1965).

A turvação consiste predominantemente de complexos polifenol-proteínas insolúveis (REINOLD, 2012), daí a importância de quantificá-los durante as etapas do processo de fabricação das cervejas. Ainda, segundo o autor, essas substâncias são responsáveis pelo sistema coloidal da cerveja. Por colóides entende-se pequenas partículas finamente dispersas, não sendo possível enxergá-los através de microscópio comum, mas que provocam a dispersão da luz. Por isso, uma diminuição na medida da absorbância indica menos partículas em suspensão.

Os resultados de todas as análises da cerveja foram divididos em dois momentos: o primeiro momento consiste de alíquotas do mosto lupulado em condições quente e frio e o segundo refere-se às etapas subsequentes de fermentação e maturação. Essa divisão ocorreu porque após o resfriamento do mosto, ocorre a adição de levedura para a etapa de fermentação, sendo uma condição diferente da primeira.

5.2.1 Determinação da concentração de proteínas

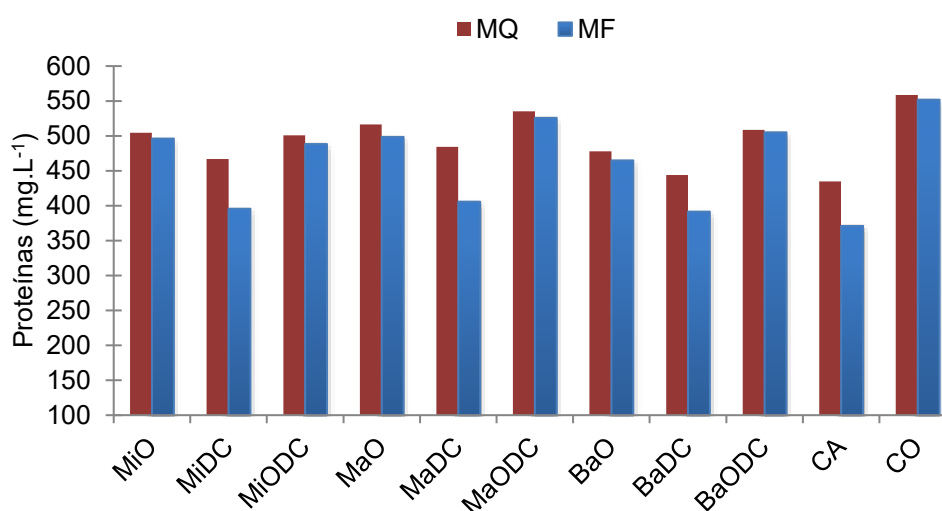
No processo de produção da cerveja, a proteína é um componente muito importante, pois fornece os aminoácidos necessários para a reprodução da levedura. Entretanto, algumas frações polipeptídicas são responsáveis pela formação de turbidez na cerveja, sendo assim, um dos fatores determinantes na qualidade e estabilidade da cerveja (HEJGAARD; KAERGAARD, 1983; ASANO et al., 1982). As proteínas podem ser encontradas com alto, médio e baixo peso molecular. As que possuem massa molecular mais alta, em torno de 40 kDa, são responsáveis pela estabilidade coloidal; enquanto que as com menores massas (aproximadamente 10 kDa) contribuem para a formação de espuma na cerveja (STEINER; BACK, 2009).

Ainda são escassos os estudos que tratam sobre o melhor método para a determinação de proteínas em cerveja. Porém, diversos autores já defenderam o método de Bradford como sendo mais rápido, fácil e sensível comparado a outros métodos (STAINER, BACK, 2009). O método utiliza o corante de "Coomassie brilliant blue" BG-250. É baseado na interação entre o corante BG-250 e macromoléculas de proteínas. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma

aniônica, que absorve fortemente em 595 nm (ZAIA et al., 1998). Williams e colaboradores (1995), ao comparar métodos para quantificação de proteínas, relata que o método de Bradford exhibe o mínimo de interferências além de fornecer valores reprodutíveis.

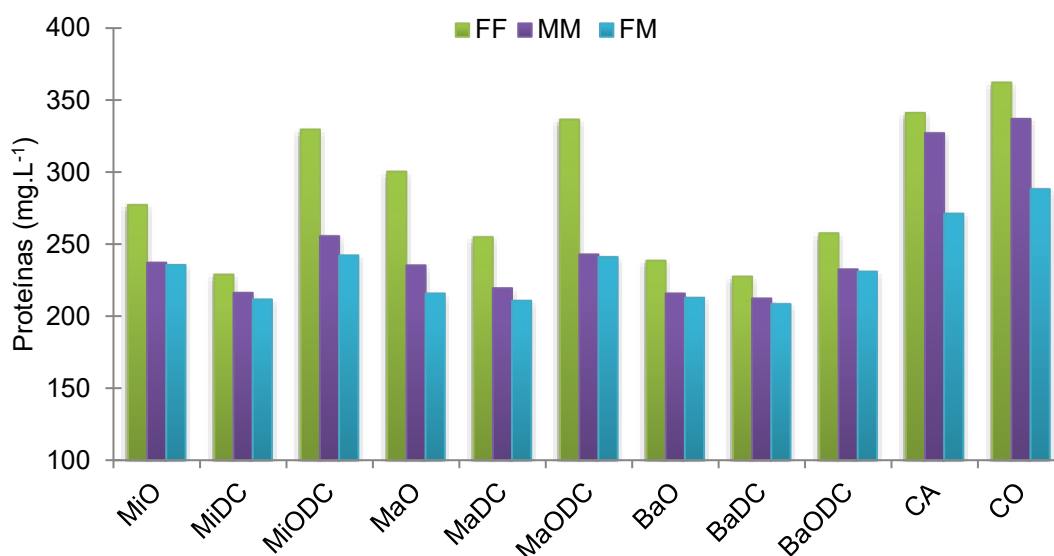
No Gráfico 1 e no Gráfico 2 são ilustrados o comportamento dos amidos modificados e da goma carragena quanto à remoção de proteínas durante as etapas do processo de produção da cerveja. Os valores das concentrações de proteínas estão apresentados na forma de tabelas em Apêndice A.

Gráfico 1 Concentração de proteínas (mg.L⁻¹) no mosto quente (MQ) e no mosto frio (MF) das cervejas fabricadas.



Fonte: Autoria própria.

Gráfico 2 Concentração de proteínas (mg.l-1) no final da fermentação (FF), no meio da maturação (MM) e no final da maturação (FM) das cervejas fabricadas.



Fonte: Autoria própria.

Durante o processo de fervura do mosto ocorre a desnaturação térmica das proteínas, resultando em sua coagulação (hot-break). Nessa etapa também são extraídos os componentes do lúpulo, entre eles os polifenóis, que complexam com as proteínas e precipitam, formando o que se chama de trub quente (BRIGGS et al., 2004).

Os agentes clarificantes são utilizados na etapa de fervura para aumentar, na etapa subsequente (resfriamento do mosto), a precipitação a frio de compostos formadores de turbidez (trub frio), tornando sua remoção mais fácil (REHMANJI et al., 2005). Assim, uma menor dosagem de proteínas no mosto frio indica menor turvação a frio (cold-break) (LEIPER; MIEDL, 2006). Ao observar o Gráfico 1, verifica-se que os amidos modificados MiDC, MaDC e BaDC diminuíram o teor de proteínas no mosto frio em relação ao mosto quente, apresentando comportamento mais próximo ao do clarificante carragena (CA), porém, esta foi a que apresentou maior potencial para remoção de proteínas no mosto quente.

A proteína, em sua composição, contém vários resíduos de aminoácidos ionizáveis, que dependendo do pH podem assumir carga negativa ou positiva. (DAMODARAN et al., 2010). Segundo Leiper e Miedl (2006), o pH do mosto quente situando-se entre 5,2-5,3, faixa em que as proteínas assumem carga positiva. Este fator pode ter ocasionado a interação destas com os grupos carboxilas das dextrinas

que neste pH assumem características aniônicas, capazes de interagir. Embora os amidos oxidados também apresentem cargas negativas, o teor de grupos carboxilas livres foi menor comparado às dextrinas (Tabela 1), o que justifica o porque interagem menos com as proteínas (Gráfico 1). Já os amidos oxidados e dextrinizados foram os que mostraram menor potencial em interagir com proteínas, podendo ser um indício de que a modificação dupla favoreceu a diesterificação, diminuindo o caráter aniônico.

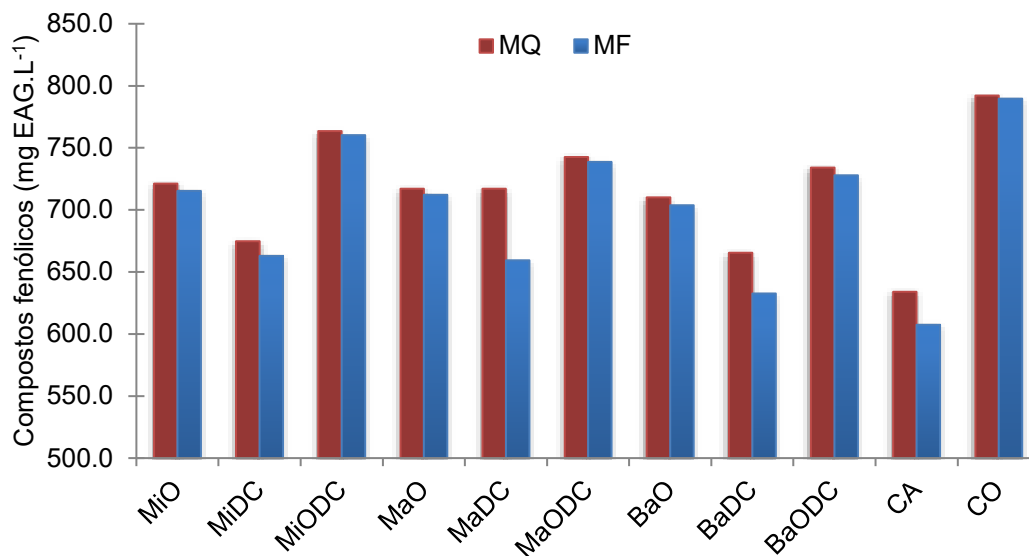
Analisando-se a concentração de proteínas nas etapas de fermentação e maturação (Gráfico 2), observa-se que todos os amidos modificados apresentaram maior interação com as proteínas, sendo superior à própria carragena na fase de maturação. Esse comportamento é o oposto ao do clarificante carragena que apresenta um melhor desempenho na etapa de fervura (RYDER; POWER, 2006). Fumi et al. (2006) defendem que os processos de precipitação podem ocorrer com intensidades diferentes e em momentos diferentes.

5.2.2 Determinação dos compostos fenólicos totais

O comportamento dos amidos modificados na remoção de polifenóis durante as etapas do processo de fabricação da cerveja está apresentado no Gráfico 3 e no Gráfico 4. Os valores submetidos ao teste de Tukey estão apresentados no Apêndice A.

Observam-se resultados semelhantes aos encontrados para as proteínas, em todos os pontos selecionados para análises das cervejas. Uma explicação para isso é que as proteínas precursoras de turvação agregam-se com os polifenóis. A literatura disponível relaciona o elevado conteúdo de prolina nessas proteínas ao processo de formação de precipitado (ASANO et al., 1982). A prolina é um aminoácido com afinidade para os compostos fenólicos (HAGERMAN; BUTLER, 1981). A formação de grandes complexos proteínas-polifenóis é guiada, principalmente, por interações hidrofóbicas entre anéis de pirrolidina da prolina e os anéis aromáticos presentes nos polifenóis (JOEBSTL et al., 2004; OH et al., 1980). Outras interações, incluindo ligações de hidrogênio e ligações iônicas, podem contribuir para estabilizar os complexos (ASANO et al., 1982).

Gráfico 3 Teor de compostos fenólicos (mg EAG.L-1) no mosto quente (MQ) e no mosto frio (MF) das cervejas fabricadas.



Fonte: Autoria própria.

Gráfico 4 Teor de compostos fenólicos (mg EAG.L-1) no final da fermentação (FF), no meio da maturação (MM) e no final da maturação (FM) das cervejas fabricadas.



Fonte: Autoria própria.

Entre o mosto quente e o mosto frio, verifica-se uma queda nos valores de compostos fenólicos (Gráfico 3). Esta situação pode ser explicada por Crompton e Hegarty (1991). Os autores relatam que o complexo proteína/polifenol não é estável

em 100°C. No entanto, abaixo de 80°C a interação proteína/polifenol torna-se cada vez mais estável, formando no mínimo 2,5% do material precipitado.

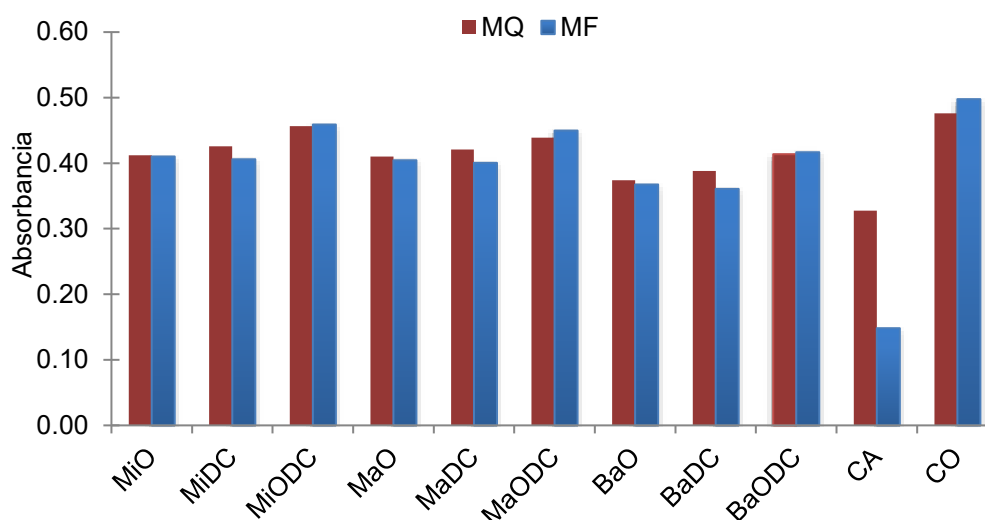
Após a fermentação, houve também um decréscimo no teor de compostos fenólicos (Gráfico 4). Siqueira et al. (2008) justificam que a cerveja não maturada ainda possui uma suspensão de leveduras e uma parte de material fermentescível, por isso passam por uma fermentação secundária chamada maturação. Esta etapa do processo contribui para a clarificação da cerveja e melhoria do seu sabor (BRIGGS et al., 2004). Pode-se perceber que após essa fase é que ocorreu uma queda expressiva de polifenóis. Sugere-se que nesse momento os amidos modificados tiveram ação clarificadora efetiva e superior à carragena.

Furigo et al. (2009) citam que após a maturação, a cerveja contém leveduras, partículas coloidais dos complexos proteínas-polifenóis e outras substâncias insolúveis, formadas devido às baixas temperaturas utilizadas durante essa etapa. Portanto para a obtenção de um produto límpido é necessário tratar com PVPP (polivinilpolipirrolidona), sílica hidrogel ou realizar a filtração do levedo para remover esse material insolúvel antes do engarrafamento. Como as amostras contendo amidos modificados destacam-se pela clarificação na etapa de maturação, a utilização destes beneficia o processo, sem necessidade de uma etapa prévia ao engarrafamento, gerando ganho econômico e de tempo.

5.2.3 Claridade

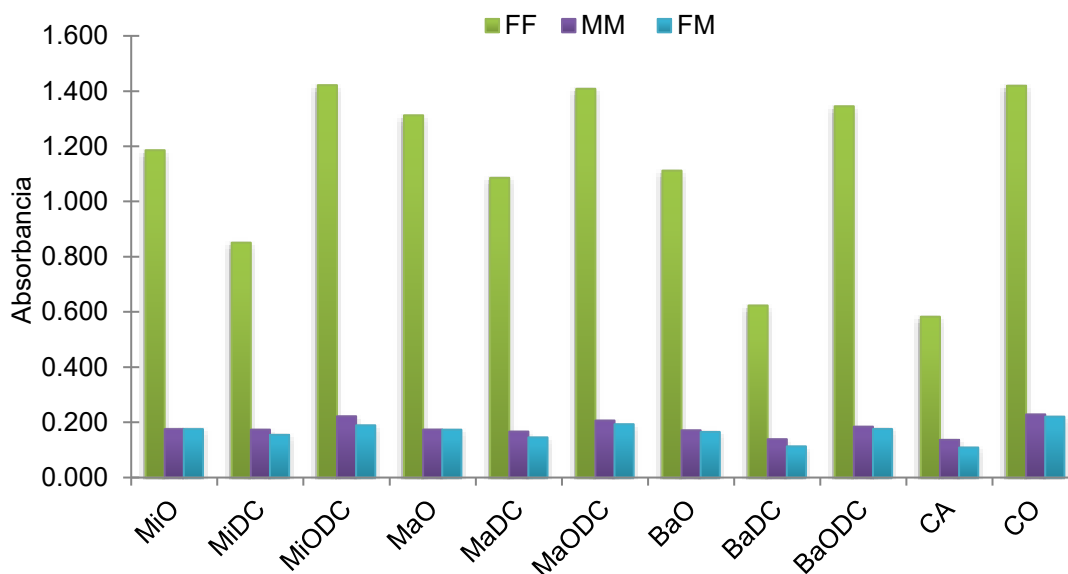
Briggs et al. (2004) citam que a claridade da cerveja pode ser avaliada pela medida da absorvância a 600 nm e quanto maior for este parâmetro menos claro é a cerveja devido à presença de partículas em suspensão que difratam a luz. O efeito dos amidos modificados e da carragena na claridade do produto são demonstrados no Gráfico 5 e no Gráfico 6, sendo que os dados obtidos estão expressos em tabelas no Apêndice A.

Gráfico 5 Claridade das cervejas fabricadas pela medida da absorvância ($\lambda=600\text{nm}$) no mosto quente (MQ) e no mosto frio (MF).



Fonte: Autoria própria.

Gráfico 6 Claridade das cervejas fabricadas pela medida da absorvância ($\lambda=600\text{nm}$) no final da fermentação (FF), no meio da maturação (MM) e no final da maturação (FM).



Fonte: Autoria própria.

Segundo a tendência observada nos resultados anteriores, a maior claridade dos mostos promovida pelos amidos modificados foi obtida notavelmente na etapa posterior à fermentação. Entretanto, entre o mosto quente e o mosto frio também se observa uma diminuição nos valores de absorvância para a maioria das amostras,

embora não sejam expressivas (Gráfico 5). O mosto contendo as amostras MiODC, MaODC e BaODC mostraram um leve aumento nos valores de absorvância do mosto frio como pode ser notado também para o mosto sem clarificante. Isso indica que possíveis reações de intercruzamento nesses amidos podem afetar negativamente a ação clarificante.

Os valores de absorvância obtidos, no final da maturação, de todos os mostos contendo os amidos modificados foram inferiores ($p < 0,05$) ao mosto controle (CO) sem clarificante, porém não foram inferiores ($p > 0,05$) ao da carragena (0,109). A turbidez do mosto na etapa de maturação pode ser influenciada pelos complexos proteínas-polifenóis e pela presença de células de levedura em suspensão. Para acelerar a sedimentação são usados clarificadores que tem capacidade de interagir com as leveduras, sendo um dos mais usados o colágeno de peixe (isinglass) que também sedimenta proteínas (LINFORTH et al., 2015).

Verificou-se que ao longo de todo o processo de fabricação da cerveja, os amidos modificados mostraram capacidade de reduzir os teores de proteínas e polifenóis como já explicado, e conseqüentemente, apresentaram potencial de clarificação dos mostos, comprovada pelos valores de absorvância, todos abaixo do valor obtido para o mosto sem clarificante (CO), porém esses valores foram superiores ao da carragena, o que levanta a hipótese de que os amidos modificados tem menor capacidade de interação com as leveduras.

Os tipos de modificações utilizados nesse estudo mostraram resultados diferentes significativamente ($p < 0,05$), sendo que as amostras dextrinizadas com ácido cítrico apresentaram melhor potencial clarificador. De acordo com Dale et al. (1995), ao estudar o efeito da carragena na clarificação da cerveja, obtiveram absorvância de 1,314 em cervejas sem clarificantes e ao adicionar goma carragena alcançaram valores de 1,096 a 0,005, sendo que a absorvância diminuiu com o aumento da concentração do clarificante. Nesse estudo, o menor valor encontrado foi 0,109 para a carragena e 0,113 para a dextrina de batata (BaDC), que embora se diferem estatisticamente ($p < 0,05$), são bastante próximos.

Ressalta-se, ainda, que a clarificação superior obtida pelas amostras de batata pode estar relacionado à presença natural de grupos fosfatos nesse amido, com conteúdos de fósforo variando de 501 a 1132 mg kg⁻¹ (SANTOS et al., 2016; ABSAR et al., 2009) enquanto que nos amidos de mandioca e milho é menor, respectivamente, 80 e 160 mg kg⁻¹ (LIM et al., 1994).

6 CONCLUSÃO

As modificações empregadas alteraram, significativamente, as propriedades físico-químicas e funcionais dos amidos de milho, mandioca e batata. Os resultados encontrados indicam que o ácido cítrico pode ser utilizado para esterificação de dextrinas, confirmada pela análise de FTIR que mostrou a presença de uma banda de absorção atribuída ao grupo éster. Embora tenha ocorrido a oxidação dos amidos tratados com hipoclorito de sódio, o teor de grupos carboxilas livres foi maior para as amostras tratadas com ácido cítrico. As modificações químicas não causaram alterações evidentes na morfologia externa dos amidos de milho e de mandioca, porém, nos grânulos do amido de batata observou-se a exo-erosão. As propriedades térmicas e a cristalinidade relativa das amostras sugerem que a reação de monoesterificação prevaleceu nos amidos dextrinizados com ácido cítrico, enquanto que para os amidos duplamente modificados provavelmente tenha ocorrido uma reação de intercruzamento.

A aplicação dos amidos modificados na cerveja propiciou, em geral, a diminuição dos teores de proteínas e de compostos fenólicos, conduzindo ao aumento da claridade. As amostras obtidas a partir do amido de batata obtiveram melhores resultados na clarificação das cervejas quando comparado aos amidos de milho e de mandioca, sendo que a modificação por dextrinização com ácido cítrico foi a que resultou no melhor produto para ser utilizado como clarificante de cerveja, apresentando potencial semelhante ao da carragena. Os amidos oxidados mostraram um leve comportamento na clarificação, já os duplamente modificados não apresentaram resultados satisfatórios. Assim, verifica-se que a quantidade de grupos aniônicos bem como o tamanho (dextrinas de menor viscosidade intrínseca) e o tipo de esterificação (monoesterificação ou intercruzamento) dos compostos sintetizados podem influenciar no poder clarificante do mosto cervejeiro.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-HAFIZ, S. A. Accelerated oxidation of maize starch using the sodium chlorite/thiourea system. **Polymer Degradation and Stability**, v. 47, n. 2, p. 275-281, 1995.
- ABSAR, N.; ZAIDUL, I. S. M.; TAKIGAWA, S.; HASHIMOTO, N.; MATSUURA-ENDO, C.; YAMAUCHI, H.; NODA, T. Enzymatic hydrolysis of potato starches containing different amounts of phosphorus. **Food Chemistry**, v. 112, n. 1, p. 57-62, 2009.
- ADEBOWALE, K. O.; AFOLABI, T. A.; OLUOWOLABI, B. I. Functional, physicochemical and retrogradation properties of sword bean (*Canavalia gladiata*) acetylated and oxidized starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 65, p. 93–101, 2006.
- AHMAD, F. B.; WILLIAMS, P. A.; DOUBLIER, J. L.; DURAND, S.; BULEON, A. Physico-chemical characterisation of sago starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 4, p. 361–370, 1999.
- ALMEIDA, J. F. **Síntese e caracterização de dextrinas esterificadas com ácido málico a partir dos amidos de mandioca e milho**. 2016. 63 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná. 2016.
- ASANO, K.; SINAGAWA, K.; HASHIMOTO, N. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 40, n. 4, p. 147-154, 1982.
- ATICHOKUDOMCHAI, N.; SHOBSNGOB, S.; VARAVINIT, S. Morphological properties of acid- modified. **Starch/Stärke**, v. 52, p. 283–289, 2000.
- BAMFORTH, C. W. Beer haze. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 57, n. 3, p. 81-90, 1999.
- BARTH-HASS. **The Barth Report**. HOPS 2016/2017. Germain Hansmaennel. 2016. Disponível: <<http://www.barthhaasgroup.com/images/mediacenter/downloads/pdfs/412/barthbericht20162017en.pdf>>. Acesso em: ago. 2017.
- BENINCA, C. **Emprego de técnicas termoanalíticas na análise de amidos nativos e quimicamente modificados de diferentes fontes botânicas**. 2008. 74 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná. 2008.
- BENINCA, C.; COLMAN, T. A. D.; LACERDA, L. G. et al. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. **Thermochimica Acta**, v. 552, p. 65–69, 2013.
- BLAZEK, J.; GILBERT, E. P. Application of small-angle X-ray and neutron scattering techniques to the characterisation of starch structure: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 85, n. 2, p. 281-293, 2011.

BLEIER, J.; KLAUSHOFER, H. Versuche zur Aufklärung der Struktur Von Citrat starken. 2. Mitteilung. Strukturmodelle einzelner Citronensaure ester der Amylose und des Amylopektins. **Starch/Stärke**, v. 35, p. 12–15, 1983.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248–254, 1976.

BRASIL. MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6871, de 04 de junho de 2009. **Diário Oficial da União República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 05 jun. 2009. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em: ago. 2015.

BREUNINGER, W. F.; PIYACHOMKWAN, K.; SRIROTH, K. **Tapioca/Cassava Starch: Production and Use**. In: BeMILLER, J.; WHISTLER, R. Starch chemistry and technology, p. 541-568. 3. ed. Burlington: Academic Press, 2009.

BRIGGS, D. E.; BOULTON, C. A.; BROOKES, P. A.; STEVENS, R. **Brewing - Science and practice**. Cambridge: CRC Press, 2004.

Brites, A. A.; Sanchez, A. D.; Due, J.; Hammond, J. J. R. M.; Martins, P. A.; Smith, I. Fermentation & Maturation. Manual of Good Practice: **European Brewery Convention**, 2000.

BRUNELLI, L. T. **Produção de Cerveja com Mel: Características Físico-Químicas, Energética e Sensorial**. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2012.

CALDWELL, C. G. **Starch Ester derivatives and method of making same**. US n. 2461139, 08 jan. 1945, 08 fev. 1949.

CÁRDENAS, H. A. R. Determinación de Parámetros Físico-Químicos para La Caracterización de Cerveza Tipo Lager Elaborada por Compañía Cervecería Kunstmann S.A. 2003. 95 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Departamento de Engenharia de Alimentos. Universidade Austral do Chile, Chile, 2003.

CEREDA, M. P. **Cervejas**. In: AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. Biotecnologia - Alimentos e bebidas produzidos por fermentação. v. 5. São Paulo: Edgard Blücher, 1985.

CEREDA, M. P. Propriedades Gerais do Amido. In: **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. v. 1, p.203. 2002. São Paulo: Fundação Cargill, 2002.

CERQUEIRA, V. C. **Produção de frutose a partir de hidrolisado enzimático de amido de mandioca**. 2012. 76 f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2012.

CERVBRASIL - Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. **Anuário**, 2016. Disponível: <http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasilAnuario2016_WEB.pdf>. Acesso em: ago. 2017.

CHATTOPADHYAY, S.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Optimisation of conditions of synthesis of oxidized starch from corn and amaranth for use in film-forming applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 34, p. 203-212, 1997.

CHÁVEZ-MURILLO, C. E.; WANG, Y-J.; BELLO-PÉREZ, L. A. Morphological, physicochemical and structural characteristics of oxidized barley and corn starches. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 634-645, 2008.

CHIN, S. F.; PANG, S. C.; LIM, L. S. Synthesis and Characterization of Novel Water Soluble Starch Tartarate Nanoparticles. **ISRN Materials Science**, v. 2012, p. 1-5, 2012.

CHIU, C. W.; SOLAREK, D. **Modification of Starches**. In: BeMILLER, J.; WHISTLER, R. Starch chemistry and technology, p. 629-655. 3. ed. Burlington: Academic Press, 2009.

CHONG, W. T.; UTHUMPORN, U.; KARIM, A. A.; CHENG, L. H. The influence of ultrasound on the degree of oxidation of hypochlorite-oxidized corn starch. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, p. 439-443, 2013.

CHRASIL, J. Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours. **Carbohydrate Research**, v. 159, n. 1, p. 154-158, 1987.

COLE, M. **Let me tell you about beers**. 1. ed. Reino Unido: Pavilion Books, 2011.

COOKE, D.; GIDLEY, M. J. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. **Carbohydrate Research**, v. 227, p. 103-112, 1992.

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

CUNNINGHAM, R. L. Effect of processing conditions on intrinsic viscosity of extruded cornstarch. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 60, n. 2, p. 181-186, 1996.

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

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

DASTIDAR T. G.; NETRAVALI, A. N. 'Green' crosslinking of native starches with malonic acid and their properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 4, p. 1620-1628, 2012.

DA RÓZ, A. L.; CARVALHO, A. J. F.; MORAIS, L. C.; CURVELO, A. A. S. Comportamento térmico e de absorção de umidade de amidos plasticizados com

glicóis. In: Congresso Brasileiro de Polímeros, 6, 2001, Gramado. **Anais...** Gramado, Rio Grande do Sul, 2001. 1 CD-ROM.

DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R.; ELIAS, M. C.; HELBIG, E.; SILVA, D. O.; CIACCO, C. F. Pasting, expansion and textural properties of fermented cassava starch oxidized with sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 268–275, 2011.

DIOP, C. I. K.; LI, H. L.; XIE, B. J.; SHI, J. Effects of acetic acid/acetic anhydride ratios on the properties of corn starch acetates. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1662–1669, 2011.

EATON, B. An overview of brewing. In: PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2. ed. [S.l.]: Taylor & Francis Group, 2006.

EVANGELISTA, R. R. **Análise do processo de fabricação industrial de cerveja**. 2012. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Tecnologia em Biocombustíveis. Faculdade de Tecnologia de Araçatuba, Araçatuba, 2012.

FARHAT, I. A.; BLANSHARD, J. M. V.; DESCAMPS, M.; MITCHELL, J. R. Effect of sugars on retrogradation of waxy maize starch-sugar extrudates. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 202-208, 2000.

FAYLE, S. E.; GERRARD, J. A. The Maillard Reaction, **Royal Society of Chemistry**, v. 14, p. 120, 2002.

FERRINI, L. M. K.; DEMIATE, I. M.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Effect of acid-methanol treatment on the physicochemical and structural characteristics of cassava and maize starches. **Starch /Stärke**, v. 60, p. 417–425, 2008.

FONSECA, L. M.; GOLÇALVES, J. R.; HALAL, S. L. M. EL; 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**, v. 60, p. 714-720, 2015.

FORSSELL, P.; HAMUNEN, A.; AUTIO, K.; SUORTTI, T.; POUTANAN, K. Hypochlorite oxidation of barley and potato starch. **Starch/Stärke**, v. 47, p. 371–377, 1995.

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

FRANCO, C. M. L.; DEMIATE, I. M.; ROCHA, T. S. Características estruturais e físico químicas de amidos de mandioca-salsa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 3, n. 28, p. 620-628, 2008.

FRANCO, C. M. L.; OGAWA, C.; RABACHINI, T.; ROCHA, T. D.; CEREDA, M. P.; JANE, J. L. Effect of lactic acid and UV irradiation on the cassava and corn starches. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, p. 443–454, 2010.

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

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

GARCÍA-TEJEDA, Y. V.; SALINAS-MORENO, Y.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Acetylation of normal and waxy maize starches as encapsulating agents for maize anthocyanins microencapsulation. **Food and Bioproducts Processing**, p. 1–10, 2014.

GENG, F.; CHANG, P. R.; YU, J.; MA, X. The fabrication and the properties of pretreated corn starch laurate. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 2, p. 361–366, 2010.

GÉRARD, C.; BARRON, C.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V. Amylose determination in genetically modified starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 44, p. 19–27, 2001.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 425–437, 2002.

HAGERMAN, A. E.; BUTLER, L. G. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 256, p. 4494-4497, 1981.

HALAL, S. L. M.; COLUSSI, R.; PINTO, V. Z.; BARTZ, R.; RADUNZ, M.; VILLARREAL, N. L.; ZAVAREZE, E. R. Structure, morphology, and functionality of acetylated and oxidized barley starches. **Food Chemistry**, v. 168, p. 247–256, 2015.

HARPER, J. Extrusion processing of starch. In: ALEXANDER, R. J.; ZOBEL, H. F. (Ed.), **Developments in Carbohydrate Chemistry**. American Association of Cereal Chemists, USA, 1992.

HEBEISH, A.; EL-THALOUTH, I. A.; REFAI, R.; RAGHEB, A. Synthesis and characterization of hypochlorite oxidized starches. **Starch/Stärke**, v.41, p. 293–298, 1989.

HEJGAARD, J.; KAERSGAARD, P. Purification and properties of the major antigenic beer protein of barley origin. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 89, p. 402-410, 1983.

HIRASHIMA, M.; TAKAHASHI, R.; NISHINARI, K. Effects of citric acid on the viscoelasticity of cornstarch pastes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 2929-2933, 2004.

HIZUKURI, S.; TAKEDA, Y.; YASUDA, M.; SUZUKI, A. Multi-branched nature of amylose and the action of debranching enzymes. **Carbohydrate Research**, v. 94, p. 205–213, 1981.

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

HOOVER, R.; RATNAYAKE, W. S. Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. **Food Chemistry**, v. 78, p. 489–498, 2002.

HORNSEY, I. **Elaboración de cerveza: microbiología, bioquímica y tecnología**. Zaragoza: Acribia, 1999.

HOUGH, J. S.; BRIGGS, D. E.; STEVENS, R.; YOUNG, T. W. **Malting and Brewing Science**, v. 2, Chapman and Hall, 1982.

HUBER, K. C.; BEMILLER, J. N. Modified starch Chemistry and properties. In: BERTOLINI, A. C. **Starches: Characterization, Properties, and Applications**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, p. 145-183, 2010.

ISO. **Determination de la teneur en amylose**. ISO 6647. International Organization for Standardization, Suiza, 1987.

JAYAKUMAR, R.; BALAJI, R.; NANJUNDAN, S. Studies on copolymers of 2-(N-phthalimido)ethyl methacrylate with methyl methacrylate. **European Polymer Journal**, v. 36, n. 8, p. 1659–1666, 2000.

JIUGAO, Y.; NING, W.; XIAOFEI, M. The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. **Starch/Stärke**, v. 57, p. 494-504, 2005.

JOCHYM, K.; KAPUSNIAK, J.; BARCZYNSKA, R.; SLIZEWSKA, K. New starch preparations resistant to enzymatic digestion. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 886–891, 2012.

JOEBSTL, E.; O'CONNELL, J.; PATRICK, J.; FAIRCLOUGH, A.; WILLIAMSON, M. P. Molecular model for astringency produced by polyphenol/ protein interactions. **Biomacromolecules**, v. 5, p. 942-949, 2004.

KAINUMA, K.; FRENCH, D. Naegeli amylopectin and its relationship to starch granule structure. I. Preparation and properties of amylopectins from various starch types. **Biopolymers**, v. 10, p. 1673–1678, 1971.

KAPELKO-ZEBERSKA, M.; BUKSA, K.; SZUMNY, A.; ZIEBA, T.; GRYSZKIN, A. Analysis of molecular structure of starch citrate obtained by a well-established method. **Food Science and Technology**, v. 69, p. 334-341, 2016.

KARIM, A. A.; NADIHA, M. Z.; CHEN, F. K.; PHUAH, Y. P.; CHUI, Y. M.; FAZILAH, A. Pasting and retrogradation properties of alkali-treated sago (Metroxylon sago) starch. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 6, p. 1044–1053, 2008.

KASICA et al. **Highly soluble, hydratable, viscous, solution stable pyrodextrins, process of making and use thereof**. US n. B1 6191116, 20 fev. 2001.

KAUR, B.; ARIFFIN, F.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Progress in starch modification in the last decade. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 2, p. 398-404, 2012.

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

KIM, S. Y.; WIESENBORN, D. P.; ORR, P. H.; GRANT, L. A. Screening potato starch for novel properties using differential scanning calorimetry. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 1060–1065, 1995.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Characterization of different starches oxidized by hypochlorite. **Starch/Starke**, v. 53, p. 211–218, 2001.

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

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

KUNZE, W. **Technology Brewing and Malting**. International. Berlin: VLB, 1999. 1. ed. Noyes Publications: New Jersey, 1995.

LAURENTIN, A.; CÁRDENAS, M.; RUALES, J.; PÉREZ, E.; TOVAR, J. Preparation of indigestible pyrodextrins from different starch sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5510–5515, 2003.

LAWAL, O. S. Composition, physicochemical properties, and retrogradation characteristics of native, oxidized, acetylated, and acid-thinned new cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) starch. **Food Chemistry**, v. 87, p. 205–218, 2004.

LAWAL, O. S. Succinyl and acetyl starch derivatives of a hybrid maize: Physicochemical characteristics and retrogradation properties monitored by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Research**, v. 339, n. 16, p. 2673–2682, 2004.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O. Physicochemical characteristics and thermal properties of chemically modified jack bean (*Canavalia ensiformis*) starch. **Carbohydrate Polymer**, v. 60, p. 331–341, 2005.

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

LEACH, W.; MCCOWEN, D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 534, n. 36, 1959.

LEATHER, R. V.; WARD, I. L. The effect of wort pH on copper finning performance. **Journal of Institute of Brewing**, v. 101, p. 187-190, 1995.

LEE, S. Y.; LEE, K. Y.; LEE, H. G. Effect of different pH conditions on the in vitro digestibility and physicochemical properties of citric acid-treated potato starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1235-1241, 2018.

LEI, J.-Y.; YEH, A. -I. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. **Journal of food Engineering**, p. 141-148, 2014.

LEIPER, K. A; MIEDL, M. Brewhouse technology. In. PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing**. 2 ed. [S.l.]: Taylor & Francis, 2006.

LEONEL, M.; CARMO, E. L.; FERNANDES, A. M.; FRANCO, C. M.; SORATTO, R. P. Physico-chemical properties of starches isolated from potato cultivars grown in soils with different phosphorus availability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 2, p. 1-6, 2015.

LI, Y.; KADAM, S.; ABEE, T.; SLAGHEK, T. M.; TIMMERMANS, J. W.; STUART, M. A. C.; KLEIJN, M. J. Antimicrobial lysozyme-containing starch microgel to target and inhibit amylase-producing microorganisms. **Food Hydrocolloids**, v. 28, p. 28–35, 2012.

LI, Y.; VRIES, R.; SLAGHEK, T.; TIMMERMANS, J.; STUART, M. A. C.; NORDE, W. Preparation and characterization of oxidized starch polymer microgels for encapsulation and controlled release of functional ingredients. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 1931–1938, 2009.

LIM, S. -T.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J. -L. Characterization of phosphorus in starch by ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Cereal chemistry**, v. 71, p. 488-493, 1994.

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

LIU, J.; WANG, B.; LIN, L.; ZHANG, J.; LIU, W.; XIE, J.; DING, Y. Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch. **Food Hydrocolloids**, v. 36, n. 1, p. 45-52, 2014.

LIZARAZO, S. P.; HURATO, G. G.; RODRIGUES, L. F. Physicochemical and morphological characterization of potato starch (*Solanum*). **Agronomía Colombiana**, v. 33, n. 2, p. 244-252, 2015.

LODAHL, M. **Brewing Techniques**. Malt Extracts: Cause for Caution. New Wine Press, v. 1, n. 2, 1993.

MACHADO, A. V.; ARAÚJO, F. M. M. C. de; PEREIRA, J. Caracterização física, química e tecnológica do Polvilho azedo. **Revista Verde**, v. 5, n. 3, p. 01-06, 2010.

MAJZOBI, M.; BEPARVA, P. Effects of acetic acid and lactic acid on physicochemical characteristics of native and cross-linked wheat starches, **Food Chemistry**, v. 147, p. 312–317, 2014.

MARCUSSO, Eduardo Fernandes. **As Microcervejarias no Brasil Atual: Sustentabilidade e Territorialidade**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sustentabilidade na Gestão Ambiental, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2015.

MARTINEZ-BUSTOS, F.; AMAYA-LLANO, S. L.; CARBAJAL-ARTEAGA, J. A.; CHANG, Y. K.; ZAZUETA-MORALES, J. D. J. Physicochemical properties of cassava, potato and jicama starches oxidized with organics acids. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 87, p. 1207–1214, 2007.

MATOS, R. A. G. **Cerveja: Panorama do Mercado, Produção Artesanal, e Avaliação de Aceitação e Preferência**. 2011. 78 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Agronomia. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

MBOUGUENG, P.; TENIN, D.; SCHER, J.; TCHI_EGANG, C. Influence of acetylation on physicochemical, functional and thermal properties of potato and cassava starches. **Journal of Food Engineering**, v. 108, p. 320-326, 2012.

McPHERSON, A. E.; BAILEY, T. B.; JANE, J. Extrusion of cross-linked hydroxypropylated corn starches I. pasting properties. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 30-325, 2000.

MEHBOOB, S.; ALI, T. M.; ALAM, F.; HASNAIN, A. Dual modification of native White sorghum (*Sorghum bicolor*) starch via acid hydrolysis and succinylation. **LWT – Food Science and Technology**, v. 64, p. 459-467, 2015.

MEI, J. -Q.; ZHOU, D. -N.; JIN, Z. -Y.; XU, X. -M.; CHEN, H. -Q. Effects of citric acid esterification on digestibility, structural and physicochemical properties of cassava starch. **Food Chemistry**, v. 187, p. 378-384, 2015.

MELLIES, R. L.; MEHLTRETTER, C. L.; SENTI, F. R. Hypochlorite-oxidized high amylose starches. **Journal Chemical Engineering**, v. 5, p. 169-171, 1960.

MURÚA-PAGOLA, B.; BERISTAIN-GUEVARA, C. I.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 91, n. 3, p. 380–386, 2009.

NACHEL, M. **Homebrewing for Dummies**. 2 ed., p. 433. Canada: Wiley Publishing, 2008.

NADIHA, M. Z. N.; FAZILAH, A.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Comparative susceptibilities of sago, potato and corn starches to alkali treatment. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1053–1059, 2010.

NAKNAEN, P.; TOBKAEW, W.; CHAICHALEOM, S. Properties of jackfruit seed starch oxidizes with different levels of sodium hypochlorite. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 5, p. 979-996, 2017.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Starke**, v. 35, p. 407-410, 1983.

NWOKOCHA, L. M.; AVIARA, N.; SENAN, C.; WILLIAMS, P. A. A comparative study of some properties of cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) and cocoyam (*Colocasia esculenta*, Linn) starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 362–367, 2009.

OH, H. I.; HOFF, J. E.; ARMSTRONG, G. S.; HAFF, L. A. Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 394-398, 1980.

OLIVATO, J. B.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F.; EIRAS, D.; PESSAN, L. A. Citric acid and maleic anhydride as compatibilizers in starch/poly(butylene adipate-co-terephthalate) blends by one-step reactive extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 2614–2618, 2012.

OLSSON, E.; MELZEL, C.; JOHANSSON, C.; ANDERSSON, R.; KOCH, K.; JARNSTROM, L. The effect of pH on hydrolysis, cross-linking and barrier properties of starch barriers containing citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1505-1513, 2013.

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

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

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

PEPE, L. S. **Impacto do tratamento térmico com baixa umidade sobre as características físico-químicas e reológicas de amidos de mandioca, araruta e mandioquinha-salsa**. 2011. 64 f. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, São Paulo. 2011.

PEREIRA, L. **Estudos em macroalgas carragenófitas (Gigartinales, Rhodophyceae) da costa portuguesa - aspectos ecológicos, bioquímicos e citológicos**. 2004. 293 f. Tese (Doutorado em Biologia) – Departamento de Botânica, Laboratório de Microscopia e Ficologia, Universidade de Coimbra, Portugal. 2004.

PERONI, F. H. G.; ROCHA, T. S.; FRANCO, C. M. L. Some structural and physicochemical characteristics of tuber and root starches. **Food Science and Technology Internacional**, v. 12, n. 6, p. 505-513, 2006.

PIETRZYK, S.; FORTUNA, T.; JUSZCZAK, L.; GALKOWSKA, D.; et al. Influence of amylose content and oxidation level of potato starch on acetylation, granule structure and radicals'formation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 57-67, 2018.

PIETRZYK, S.; JUSZCZAK, L.; FORTUNA, T.; CIEMNIEWSKA, A. Effect of the oxidation level of corn starch on its acetylation and physicochemical and rheological properties. **Journal of Food Engineering**, v. 120, p. 50–56, 2014.

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

PORTO, Paula D. de. **Tecnologia de fabricação de malte: uma revisão**. 2011. 58 f. Monografia – Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

PREY, V.; SIKLOSSY, S. T. The significance of aldehyde groups in hypochlorite oxidized starches. **Starch/Stärke**, v. 23, p. 235–238, 1971.

RATNAYAKE W. S.; JACKSON D. S. Starch gelatinization. In: **Advances in Food and Nutrition Research**. Amsterdam: Academic Press, p. 221–268, 2009.

REHMANJI M.; GOPAL C.; MOLA A. Beer stabilization technology-clearly a matter of choice. **Master Brewers Association of the Americas Technical Quarterly**, v. 42, p. 332–338, 2005.

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

REINOLD, M. A estabilização físico-química da cerveja. **Revista da Indústria de Bebida**, 64 ed., 2012.

RICHARDSON, S., GORTON, L. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. **Analytica Chimica Acta**, v. 497, p. 27–65, 2003.

ROCHA, T. S.; CARNEIRO, A. P. A.; FRANCO, C. M. L. Effect of enzymatic hydrolysis on some physicochemical properties of root and tuber granular starches. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 544–551, 2010.

ROLLAND-SABATÉ, A.; SÁNCHEZ, T.; BULÉON, A.; et al. Food Hydrocolloids Structural characterization of novel cassava starches with low and high-amylose contents in comparison with other commercial sources. **Food hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 161–174, 2012.

RUTENBERG, M. W. Starch and its modifications. In: **Handbook of Water Soluble Gums and Resins**. Davidson, R. L., (Ed.). McGraw-Hill: New York, 1980.

RYDER, D. S.; POWER, J. Miscellaneous ingredients in aid of the process. **Handbook of Brewing**. Cap. 9, p. 333-378, 2006.

SACHS, L. G. **Cerveja**. 26 f. Departamento de Ciências Biológicas e Tecnologia. Fundação Faculdades "Luiz Meneghel", Bandeirantes, 2001.

SANDHU, K. S.; KAUR, M.; SINGH, N.; LIM, S. T. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1000–1010, 2008.

SANDHU, K. S.; SINGH, N. Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1499-1507, 2007.

SANGUANPONG, V.; CHOTINEERANAT, S.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C.G.; CHINACHOTI, P.; SRIROTH, K. Preparation and structural properties of small-particle

cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 760–768, 2003.

SANGSEETHONG, K.; LERTPHANICH, S.; SRIROTH, K. Physicochemical properties of oxidized cassava starch prepared under various alkalinity levels. **Starch/Stärke**, v. 61, p. 92–100, 2009.

SANGSEETHONG, K.; TERMVEJSAYANON, N.; SRIROTH, K. Characterization of physicochemical properties of hypochlorite- and peroxide-oxidized cassava starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 446-453, 2010.

SANTOS, J. I.; DINBAM, R.; ADAMES, C. **O essencial em cervejas e destilados**. 2. ed. rev. e amp. São Paulo: Editora Senac, 2013.

SANTOS, T. P.; LEONEL, M.; GARCIA, E. L.; CARMO, E. L.; FRANCO, C. M. Crystallinity thermal and pasting properties of starches from different potato cultivars grown in Brazil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 144-149, 2016.

SARIFUDIN, A.; ASSIRY, A. M. Some physicochemical properties of dextrin produced by extrusion process. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 13, n. 2, p. 100–106, 2014.

SCHISLER, D. O.; RUOCCO, J. J.; MABEE, M. S. Wort trub content and its effects on fermentation and beer flavor. **Journal of American Society of Brewing Chemists**, v. 40, n. 2, p. 57-61, 1982.

SHI, R.; ZHANG, Z.; LIU, Q.; HAN, Y.; ZHANG, L.; CHEN, D.; TIAN, W. Characterization of citric acid/glycerol co-plasticized thermoplastic starch prepared by melt blending. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 748-755, 2007.

SILVA, G. D. O. DA; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; et al. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 188–197, 2006.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications - A review. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 1, p. 1–22, 2007.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219–231, 2003.

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

SIQUEIRA, P. B.; BOLINI, H. M. A.; MACEDO, G. A. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 19, n. 4, p. 491-498, 2008.

SLEIMAN, M.; VENTURINI FILHO, W. G. Utilização de extratos de malte na fabricação de cerveja: avaliação físico-química e sensorial. **Braz. J. Food Technol. Preprint Serie**, n. 170, 2004.

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

SOLOMON, O. F.; CIUTA, I. Z. Determination de la viscosité intrinsèque de solutions de polymères par uma simple détermination de la viscosité. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 6, p. 683-686, 1962.

SPIER, F. **Efeito do tratamento alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho**. 2010. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Rural). Universidade de Pelotas, Pelotas, 2010.

SRIROTH, K.; PIYACHOMWAN, K.; SANGSEETHONG, K.; OATES, C. **Modification of cassava starch**. X International Starch Convention, p. 11-14, 2002, Poland. Disponível em: <www.cassava.org/Poland/Modification.pdf>. Acesso em: jun. 2006.

STEINER, E.; BACK, W. A critical review of protein assays and further aspects of new methods in brewing science. **Brewing Science**, v. 62, p. 38-42, 2009.

STUBITS, M.; TENG, J.; PEREIRA, J. Characterization of malt grist fractions. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 44, n. 1, p. 12-15, 1986.

SZWAJGIER, D.; BANCARZEWSKA, M. Changes in the phenolic acid content during wort boiling and whirlpool. **Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.**, v. 10, n. 1, 2011.

TAKIZAWA, F. F. et al. Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 6, p. 921-931, 2004.

TEACĂ, C. A.; BODÎRLĂU, R.; SPIRIDON, I. Effect of cellulose reinforcement on the properties of organic acid modified starch microparticles/plasticized starch bio-composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, n. 1, p. 307-315, 2013.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 551-557, 1990.

TSCHOPE, E. C. *Microcervejarias e cervejarias; a história, a arte e a tecnologia*. 1. ed. São Paulo: Editora Aden, 2001.

VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 245-266, 2004.

VANIER, N. L.; EL HALAL, S. L. M.; DIAS, A. R. G.; ZAVAREZE, E. R. Molecular structure, functionality and applications of oxidized starches: A review. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1546-1559, 2017.

VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. R.; PINTO, V. Z.; KLEIN, B.; BOTELHO, F. T.; DIAS, A. R. G.; ELIAS, M. C. Physicochemical, crystallinity, pasting and morphological properties of bean starch oxidised by different concentrations of sodium hypochlorite. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1255–1262, 2012.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas: Tecnología, Química e Microbiología**. 1. ed., p. 487. Zaragoza: Editorial Acribia, 1997.

VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de Bebidas: Matéria-prima, processamento, BPF/APPCC**, Legislação, Mercado. p. 550. São Paulo: Edgard Blücher, 2005.

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

WANG, Y. J.; KOZLOWSKI, R.; DELGADO, G. A. Enzyme resistant dextrans from high amylose corn mutant starches. **Starch/Starke**, v. 53, n. 1, p. 21–26, 2001.

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

WANG, Z.; LI, Y.; CHEN, L.; XIN, X.; YUAN, Q. A study of controlled uptake and release of anthocyanins by oxidized starch microgels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 24, p. 5880-5887, 2013.

WARD, I.L. Wort and beer clarification manual: **Brewers Supply Group**. Disponível em:<http://www.brewerssupplygroup.com/FileCabinet/WortandBeerFinning_Manual.pdf>. Acesso em: ago. 2015.

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

WEPNER, B.; BERGHOFER, E.; MIESENVERGER, E.; TIEFENBACHER, K.; PERRY, N. K. Citrate starch – Application as resistant starch in different food systems. **Starch/Starke**, v. 51, n. 10, p. 354-361, 1999.

WIESENBORN, D. P.; ORR, P. H.; CASPER, H. H.; TACKE, B. K. Potato starch paste behaviour as related to some physical/chemical properties. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 644–648, 1994.

WILLIAMS, K. M.; FOX, P.; MARSHALL, T. A comparison of protein assays for the determination of the protein concentration of beer. **Journal of Institute Brewing**, v. 101, p. 365-369, 1995.

WING, R. E. Starch citrate: preparation and ion exchange properties. **Starch-Starke**, v. 48, p. 275-279, 1996.

WOLFE, E.; BICKHAM, S.; HOUSEMAN, D.; WOTRING, G.; SAPSIS, D.; GAROFALO, P.; HANNING, C. **Guia de estudo para os exames de cerveja do bjcp**. Beer Judge Certification Program, 2012.

WURZBURG, O. B. **Preparation of starch derivatives**. US n. 2935510, 06 jun. 1958, 05 mar. 1960.

WURZBURG, O. B. Converted starches. In: WURZBURG, O. B. (Ed.). **Modified starches: Properties and uses**. CRC Press: Boca Raton, p. 17–40, 1986.

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

WURZBURG, O. B. Modified Starches. In: **Food Polysaccharides and their applications**; 2. ed. CRC Press. Taylor & Francis Group, p. 88-113, 2006.

XIE, X.; LIU, Q. Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. **Starch/Stärke**, v. 56, p. 364-370, 2004.

XIE, X.; LIU, Q.; CUI, S. W. Studies on the granular structure of resistant starches (type 4) from normal, high amylose and waxy corn starch citrates. **Food Research International**, v. 39, p. 332-341, 2006.

XU, Y.; MILADINOV, V.; HANNA, M. A. Synthesis and characterization of starch acetates with high substitution. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 6, p. 735–740, 2004.

YADAV, A. R.; MAHADEVAMMA, S.; THARANATHAN, R. N.; RAMTEKEA, R. S. Characteristics of acetylated and enzyme-modified potato and sweet potato flours. **Food Chemistry**, v. 103, n. 4, p. 1119–1126, 2007.

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

YUN, Y. H; NA, Y. H; YOON, S. D. Mechanical properties with the functional group of additives for starch/PVA blend film. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 14, n. 1, p. 71-78, 2006.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 787-793, 1998.

ZAVAREZE, E. R.; PEREIRA, J. M. ; MOURA, F. A.; SPIER, F.; HELBIG, E.; DIAS, A. R. G. Teor de amido resistente e perfil de textura de amidos de arroz com diferentes níveis de amilose modificados hidrotermicamente. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 1, p. 96–101, 2010.

ZHANG, S.; LIU, F.; PENG, H.; PENG, X.; JIANG, S.; WANG, J. Preparation of novel C-6 position carboxyl corn starch by a green method and its application in flame retardance of epoxy resin. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 54, n. 48, p. 11944-11952, 2015.

ZHENG, G. H.; SOSULSKI, F. W. Determination of water separation from cooked starch and flour pastes after refrigeration and freeze-thaw. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 134-139, 1998.

ZHOU, J.; TONG, J.; SU, X.; REN, L. Hydrophobic starch nanocrystals preparations through crosslinking modification using citric acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 91, p. 1186-1193, 2016a.

ZHOU, F.; LIU, Q.; ZHANG, H.; CHEN, Q.; KONG, B. Potato starch oxidation induced by sodium hypochlorite and its effect on functional properties and digestibility. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 84, p. 410-417, 2016b.

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 456-480, 2015.

ZUO, Y.; GU, J.; YANG, L.; QIAO, Z.; TAN, H.; ZHANG, Y. Synthesis and characterization of maleic anhydride esterified corn starch by the dry method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 62, p. 241-247, 2013.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabelas contendo os valores referentes aos dados contidos nos gráficos 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

Tabela 8 Teor de proteínas (mg/L) do mosto quente (MQ), mosto frio (MF), final da fermentação (FF), meio da maturação (MM) e final da maturação (FM).

Tratamento	MQ	MF	FF	MM	FM
MiO	504,6 ± 2,86 ^{hA}	496,1 ± 0,46 ^{hB}	277,2 ± 4,21 ^{cC}	237,1 ± 3,47 ^{deD}	235,5 ± 2,38 ^{deD}
MiDC	466,7 ± 6,07 ^{cA}	395,6 ± 3,44 ^{iB}	228,9 ± 2,42 ^{hC}	216,2 ± 1,99 ^{fgD}	211,6 ± 1,50 ^{fgD}
MiODC	500,9 ± 2,66 ^{hA}	488,3 ± 0,88 ^{cB}	329,6 ± 3,04 ^{fC}	255,5 ± 1,90 ^{cdD}	242,2 ± 1,16 ^{ceE}
MaO	516,4 ± 3,78 ^{fA}	498,4 ± 1,16 ^{ghB}	300,4 ± 2,86 ^{bC}	235,3 ± 2,75 ^{eD}	215,7 ± 1,76 ^{fE}
MaDC	484,4 ± 3,72 ^{gA}	405,7 ± 2,91 ^{eB}	254,8 ± 1,99 ^{gC}	219,4 ± 2,76 ^{fdD}	210,7 ± 2,71 ^{fgD}
MaODC	535,0 ± 2,43 ^{baA}	525,8 ± 2,43 ^{bbB}	336,5 ± 3,86 ^{efC}	242,9 ± 2,49 ^{ddD}	241,0 ± 2,49 ^{cdE}
BaO	477,7 ± 4,27 ^{gA}	464,8 ± 4,21 ^{dB}	238,5 ± 3,93 ^{dC}	215,7 ± 3,72 ^{fgD}	212,8 ± 1,74 ^{fgD}
BaDC	443,9 ± 2,19 ^{daA}	391,5 ± 4,41 ^{iB}	227,5 ± 1,38 ^{hC}	212,3 ± 2,04 ^{gdD}	208,4 ± 2,43 ^{gdD}
BaODC	508,8 ± 1,27 ^{fhA}	504,1 ± 1,84 ^{gA}	257,6 ± 2,25 ^{gB}	232,5 ± 3,47 ^{ecD}	230,9 ± 1,99 ^{ecD}
CA	434,7 ± 2,43 ^{eaA}	371,0 ± 4,27 ^{fbB}	341,1 ± 3,31 ^{ecD}	327,1 ± 3,40 ^{bdD}	271,2 ± 3,47 ^{beE}
CO	558,7 ± 4,83 ^{aaA}	551,8 ± 0,46 ^{abB}	362,3 ± 3,22 ^{acD}	337,0 ± 1,90 ^{adD}	288,2 ± 3,04 ^{aeE}

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

**Dados referentes aos Gráficos 1 e 2.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 9 Teor de compostos fenólicos totais (mg EAG/L) do mosto quente (MQ), mosto frio (MF), final da fermentação (FF), meio da maturação (MM) e final da maturação (FM).

Tratamento	MQ	MF	FF	MM	FM
MiO	721,3 ± 2,10 ^{hA}	715,3 ± 1,44 ^{hB}	631,8 ± 1,71 ^{ghC}	590,1 ± 2,18 ^{eD}	585,9 ± 1,65 ^{efgE}
MiDC	674,9 ± 2,32 ^{eA}	662,9 ± 2,02 ^{iB}	621,4 ± 2,21 ^{dC}	588,4 ± 3,73 ^{eD}	576,1 ± 2,18 ^{dE}
MiODC	763,5 ± 1,36 ^{bA}	757,3 ± 1,95 ^{bA}	701,4 ± 2,50 ^{bB}	601,9 ± 2,18 ^{dC}	595,5 ± 2,45 ^{cC}
MaO	717,1 ± 2,17 ^{hiA}	712,1 ± 1,17 ^{hA}	630,9 ± 2,02 ^{hB}	589,8 ± 1,94 ^{eC}	584,4 ± 1,49 ^{fgC}
MaDC	717,0 ± 2,45 ^{hiA}	659,4 ± 2,96 ^{iB}	613,3 ± 1,55 ^{iC}	579,1 ± 1,55 ^{bD}	574,3 ± 1,26 ^{dD}
MaODC	742,5 ± 2,65 ^{cA}	736,6 ± 0,48 ^{cA}	659,9 ± 0,85 ^{cB}	592,3 ± 2,22 ^{eC}	589,5 ± 2,42 ^{eC}
BaO	710,3 ± 2,10 ^{iA}	703,8 ± 1,44 ^{eB}	613,5 ± 2,48 ^{iC}	588,3 ± 1,32 ^{eD}	583,4 ± 1,25 ^{gE}
BaDC	665,5 ± 2,48 ^{fA}	632,6 ± 1,97 ^{fB}	608,3 ± 2,10 ^{eC}	561,9 ± 1,89 ^{cD}	555,6 ± 1,65 ^{bE}
BaODC	734,0 ± 0,41 ^{dA}	727,9 ± 1,32 ^{dB}	636,4 ± 2,21 ^{fgC}	588,4 ± 1,75 ^{aD}	588,3 ± 1,50 ^{efD}
CA	634,1 ± 2,32 ^{gA}	607,4 ± 2,06 ^{gB}	638,4 ± 2,12 ^{fA}	603,0 ± 2,04 ^{dB}	598,5 ± 1,47 ^{cC}
CO	792,1 ± 2,18 ^{aA}	789,6 ± 1,25 ^{aA}	710,1 ± 1,93 ^{aB}	624,8 ± 1,44 ^{aC}	621,8 ± 2,02 ^{aC}

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

**Dados referentes aos Gráficos 3 e 4.

Fonte: Autoria própria.

Tabela 10 Análise de claridade (medida da absorvância em $\lambda=600$ nm) do mosto quente (MQ), mosto frio (MF), final da fermentação (FF), meio da maturação (MM) e final da maturação (FM).

Tratamento	MQ	MF	FF	MM	FM
MiO	0,412 \pm 0,001 ^{hB}	0,410 \pm 0,001 ^{eB}	1,186 \pm 0,002 ^{dA}	0,176 \pm 0,002 ^{gC}	0,176 \pm 0,001 ^{iC}
MiDC	0,426 \pm 0,001 ^{gB}	0,406 \pm 0,001 ^{iC}	0,851 \pm 0,003 ^{gA}	0,174 \pm 0,001 ^{ghD}	0,155 \pm 0,001 ^{eE}
MiODC	0,457 \pm 0,002 ^{bB}	0,459 \pm 0,002 ^{bB}	1,422 \pm 0,005 ^{JA}	0,222 \pm 0,001 ^{bC}	0,189 \pm 0,002 ^{cD}
MaO	0,410 \pm 0,002 ^{hB}	0,405 \pm 0,002 ^{iC}	1,312 \pm 0,002 ^{cA}	0,174 \pm 0,001 ^{ghD}	0,173 \pm 0,002 ^{iD}
MaDC	0,421 \pm 0,002 ^{gB}	0,401 \pm 0,001 ^{iC}	1,086 \pm 0,002 ^{fA}	0,167 \pm 0,001 ^{eD}	0,146 \pm 0,001 ^{fE}
MaODC	0,439 \pm 0,003 ^{cB}	0,450 \pm 0,002 ^{cC}	1,408 \pm 0,004 ^{aA}	0,207 \pm 0,002 ^{cD}	0,193 \pm 0,001 ^{bE}
BaO	0,374 \pm 0,001 ^{eB}	0,368 \pm 0,001 ^{gC}	1,112 \pm 0,003 ^{eA}	0,171 \pm 0,000 ^{hD}	0,165 \pm 0,001 ^{dE}
BaDC	0,388 \pm 0,001 ^{dB}	0,361 \pm 0,001 ^{hC}	0,623 \pm 0,001 ^{hA}	0,139 \pm 0,001 ^{fD}	0,113 \pm 0,001 ^{gE}
BaODC	0,414 \pm 0,003 ^{hB}	0,417 \pm 0,001 ^{dB}	1,345 \pm 0,004 ^{bA}	0,184 \pm 0,001 ^{dC}	0,176 \pm 0,001 ^{iD}
CA	0,328 \pm 0,002 ^{fB}	0,148 \pm 0,001 ^{iC}	0,583 \pm 0,002 ^{iA}	0,136 \pm 0,002 ^{fD}	0,109 \pm 0,003 ^{hE}
CO	0,476 \pm 0,003 ^{aB}	0,498 \pm 0,002 ^{aC}	1,419 \pm 0,001 ^{JA}	0,229 \pm 0,001 ^{aD}	0,221 \pm 0,001 ^{aE}

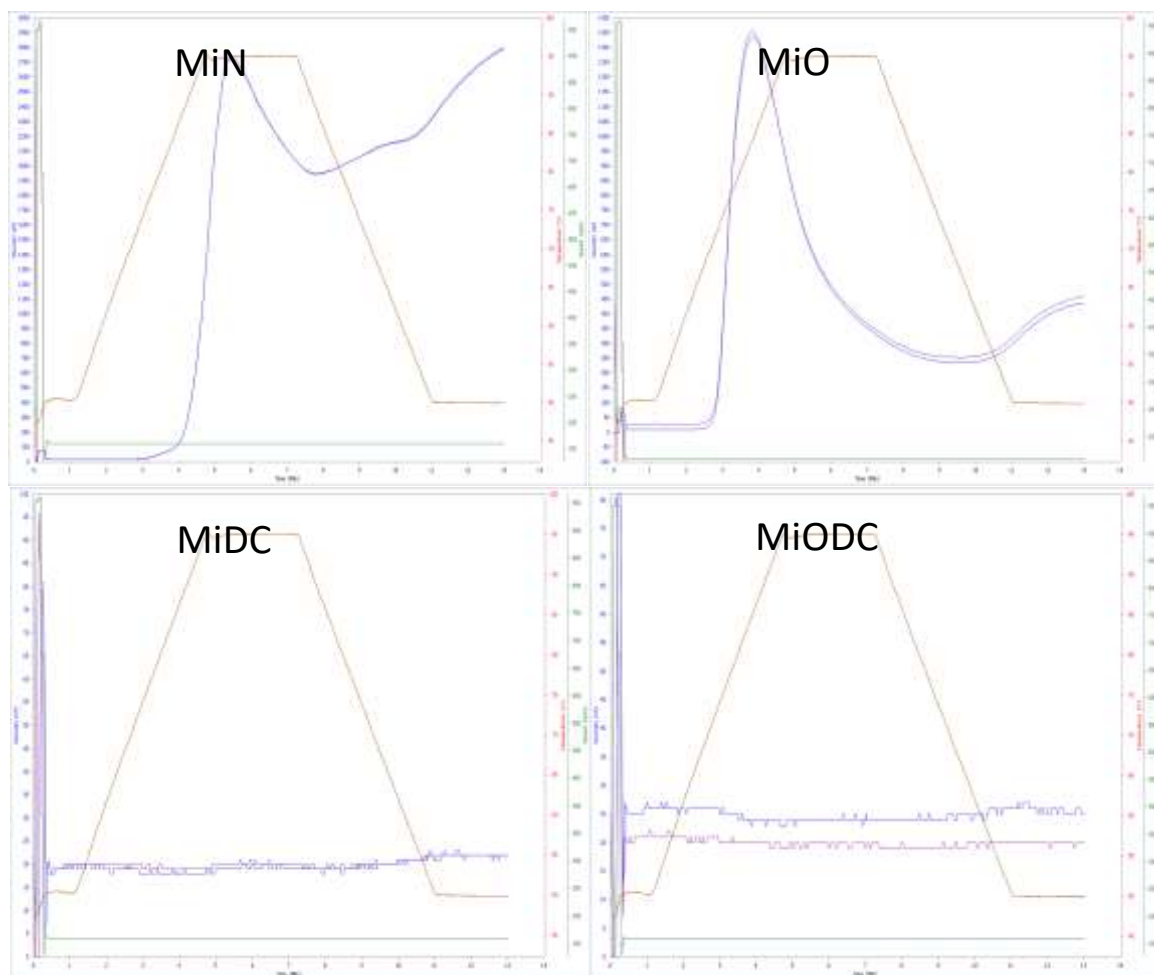
* Valores apresentam a média \pm desvio padrão; letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*); letras maiúsculas iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (*Tukey*);

**Dados referentes aos Gráficos 5 e 6.

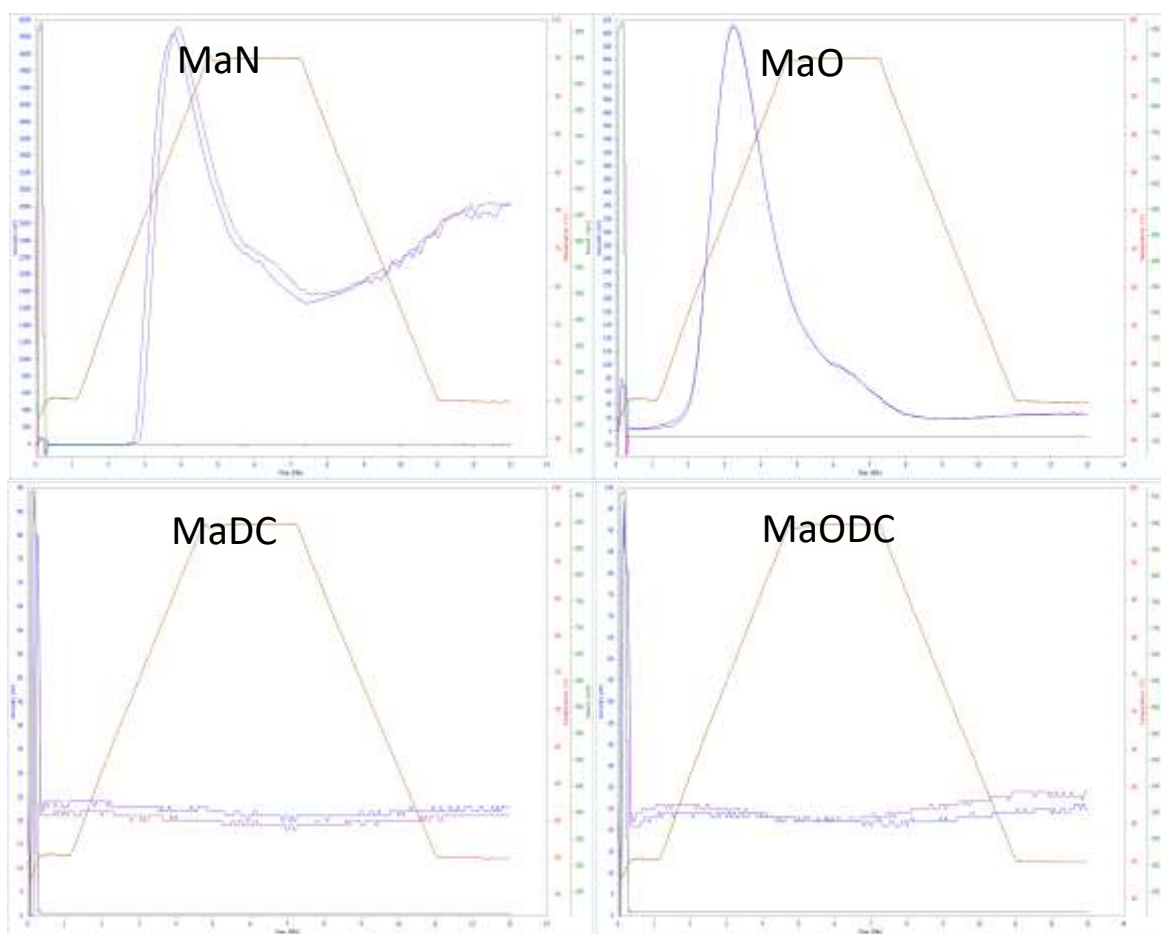
Fonte: Autoria própria.

APÊNDICE B – Perfis viscoamilográficos dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados.

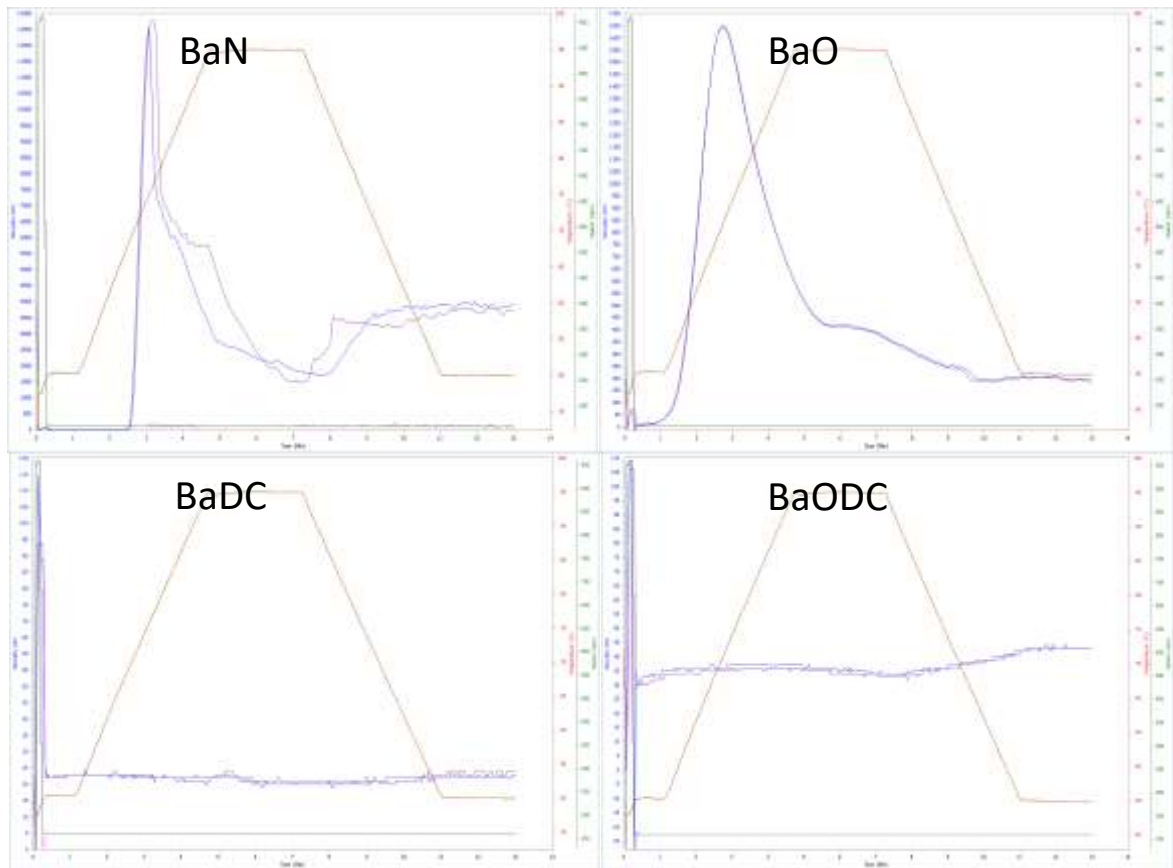
Figura 14 Perfis viscoamilográficos dos amidos nativos e dos seus respectivos amidos modificados:
(a) milho, (b) mandioca e (c) batata.



(a)



(b)



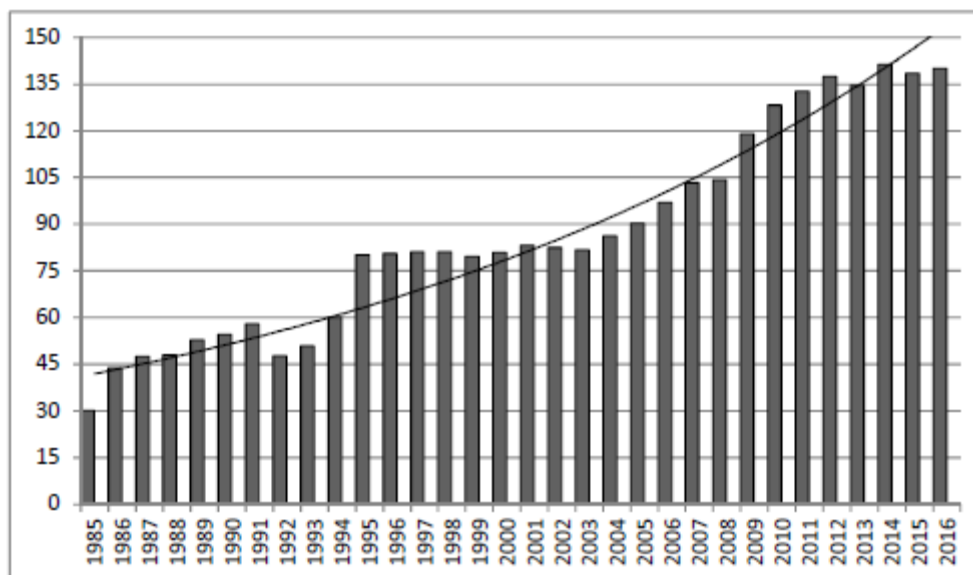
(c)

Fonte: Autoria própria.

ANEXOS

ANEXO – Gráfico

Gráfico 7 Produção nacional de cerveja em milhões de hectolitros por ano.



Fonte: MARCUSSO, 2015; CERVBRAZIL, 2016.