

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS ARARAQUARA

CARACTERIZAÇÃO DA BATATA YACÓN PARA
PRODUÇÃO DE CERVEJA COMO PRODUTO
FUNCIONAL

JOSÉ LUCAS DE LIMA

Araraquara
2020

JOSÉ LUCAS DE LIMA

CARACTERIZAÇÃO DA BATATA YACÓN PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA COMO PRODUTO FUNCIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Darío Abel Palmieri

Araraquara
2020

L732c Lima, José Lucas de.
Caracterização da batata yacón para produção de cerveja como produto funcional / José Lucas de Lima. – Araraquara: [S.n.], 2020. 68 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos. Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: Darío Abel Palmieri.

1. Batata yacón. 2. Cerveja. 3. Alimento Funcional. 4. Antioxidante.
I. Palmieri, Darío Abel, orient. II. Título.

TERMO DE SIGILO PARA MEMBRO DE BANCA EXAMINADORA

Darío Abel Palmieri, nacionalidade brasileira, inscrito no CPF/MF sob nº 21486028888, portador da cédula de identidade RNE nº V249779-9 doravante denominado **EXAMINADOR**;

Considerando que a UNESP possui política institucional que visa a proteção legal dos resultados oriundos de suas atividades de pesquisa e desenvolvimento técnico e tecnológico;

Considerando que a novidade é um dos requisitos necessários à proteção dos resultados de pesquisas pelos institutos de propriedade industrial, e, por conseqüência, a sua manutenção em sigilo até a adoção dos procedimentos legais pertinentes é indispensável para a obtenção da proteção almejada; e

Considerando, ainda, o disciplinado pelo ordenamento jurídico brasileiro, em especial pela Lei nº 9.279/96 (Lei de Propriedade Industrial), Lei nº 9.609/98 (Lei de Programa de Computador), Lei nº 9.610/98 (Lei de Direitos Autorais), Lei nº 10.973/04 (Lei de Inovação, regulamentada pelo Decreto nº 5.563, de 11 de outubro de 2005) e Lei Complementar nº 1.049/08 (Lei Paulista de Inovação, regulamentada pelo Decreto nº 54.690, de 18 de agosto de 2009);

firma o EXAMINADOR o presente Termo de Sigilo, nas condições a seguir:

CLÁUSULA PRIMEIRA. O EXAMINADOR compromete-se a manter sigilo em relação a qualquer "Informação Confidencial" a que tiver acesso no exercício de suas atividades de membro de banca examinadora constituída para análise da tese intitulada "**CARACTERIZAÇÃO DA BATATA YACÓN PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA COMO PRODUTO FUNCIONAL**", desenvolvida pelo mestrando **JOSÉ LUCAS DE LIMA** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara-UNESP da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

CLÁUSULA SEGUNDA. A expressão "Informação Confidencial" abrange toda a informação relativa às pesquisas desenvolvidas no escopo da tese a que o EXAMINADOR tenha acesso, sob a forma escrita, verbal ou por quaisquer outros meios de comunicação, inclusive eletrônicos.

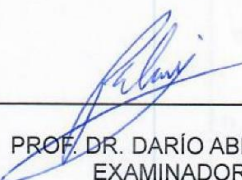
Parágrafo único. Não será considerada "Informação Confidencial" aquela que estiver sob domínio público antes de ser revelada ou disponibilizada ao EXAMINADOR.

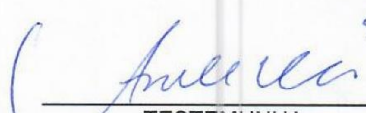
CLÁUSULA TERCEIRA. O presente termo vigorará até que os direitos de propriedade intelectual das pesquisas desenvolvidas no escopo da tese estejam devidamente protegidos junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI e junto ao Órgão competente em âmbito internacional pela UNESP.

CLÁUSULA QUARTA. Fica eleito uma das varas da Fazenda Pública Estadual, circunscrição judiciária de São Paulo, Capital, para dirimir dúvidas ou litígios oriundos do presente instrumento.

E para todos os efeitos, firma o presente termo na presença das testemunhas abaixo-assinadas.

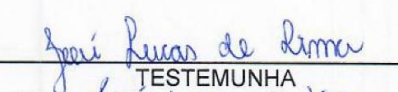
Assis, 31 de janeiro de 2020.



PROF. DR. DARÍO ABEL PALMIERI
EXAMINADOR

TESTEMUNHA

Nome: Aniele Vilella
CPF/MF: 368.997.328-74



TESTEMUNHA

Nome: José Lucas de Lima
CPF/MF: 379.286.588-02

TERMO DE SIGILO PARA MEMBRO DE BANCA EXAMINADORA

Regildo Márcio Gonçalves da Silva, nacionalidade brasileira, inscrito no CPF/MF sob nº 00617268690, portador da cédula de identidade RG nº 22.232.450-8 doravante denominado **EXAMINADOR**;

Considerando que a UNESP possui política institucional que visa a proteção legal dos resultados oriundos de suas atividades de pesquisa e desenvolvimento técnico e tecnológico;

Considerando que a novidade é um dos requisitos necessários à proteção dos resultados de pesquisas pelos institutos de propriedade industrial, e, por conseqüência, a sua manutenção em sigilo até a adoção dos procedimentos legais pertinentes é indispensável para a obtenção da proteção almejada; e

Considerando, ainda, o disciplinado pelo ordenamento jurídico brasileiro, em especial pela Lei nº 9.279/96 (Lei de Propriedade Industrial), Lei nº 9.609/98 (Lei de Programa de Computador), Lei nº 9.610/98 (Lei de Direitos Autorais), Lei nº 10.973/04 (Lei de Inovação, regulamentada pelo Decreto nº 5.563, de 11 de outubro de 2005) e Lei Complementar nº 1.049/08 (Lei Paulista de Inovação, regulamentada pelo Decreto nº 54.690, de 18 de agosto de 2009);

firma o EXAMINADOR o presente Termo de Sigilo, nas condições a seguir:

CLÁUSULA PRIMEIRA. O EXAMINADOR compromete-se a manter sigilo em relação a qualquer "Informação Confidencial" a que tiver acesso no exercício de suas atividades de membro de banca examinadora constituída para análise da tese intitulada "**CARACTERIZAÇÃO DA BATATA YACÓN PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA COMO PRODUTO FUNCIONAL**", desenvolvida pelo mestrando **JOSÉ LUCAS DE LIMA** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara-UNESP da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

CLÁUSULA SEGUNDA. A expressão "Informação Confidencial" abrange toda a informação relativa às pesquisas desenvolvidas no escopo da tese a que o EXAMINADOR tenha acesso, sob a forma escrita, verbal ou por quaisquer outros meios de comunicação, inclusive eletrônicos.


Parágrafo único. Não será considerada "Informação Confidencial" aquela que estiver sob domínio público antes de ser revelada ou disponibilizada ao EXAMINADOR.

CLÁUSULA TERCEIRA. O presente termo vigorará até que os direitos de propriedade intelectual das pesquisas desenvolvidas no escopo da tese estejam devidamente protegidos junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI e junto ao Órgão competente em âmbito internacional pela UNESP.

CLÁUSULA QUARTA. Fica eleito uma das varas da Fazenda Pública Estadual, circunscrição judiciária de São Paulo, Capital, para dirimir dúvidas ou litígios oriundos do presente instrumento.

E para todos os efeitos, firma o presente termo na presença das testemunhas abaixo-assinadas.

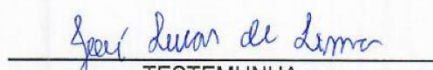
Assis, 31 de janeiro de 2020.



PROF. DR. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA
EXAMINADOR



TESTEMUNHA
Nome: Aniele Vilella
CPF/MF: 368.997.328-74



TESTEMUNHA
Nome: José Lucas de Lima
CPF/MF: 329.386.526-06

TERMO DE SIGILO PARA MEMBRO DE BANCA EXAMINADORA

Lucinéia dos Santos, nacionalidade brasileira, inscrito no CPF/MF sob nº 09630548801, portador da cédula de identidade RG nº 11.139.232-9 doravante denominado **EXAMINADOR**;

Considerando que a UNESP possui política institucional que visa a proteção legal dos resultados oriundos de suas atividades de pesquisa e desenvolvimento técnico e tecnológico;

Considerando que a novidade é um dos requisitos necessários à proteção dos resultados de pesquisas pelos institutos de propriedade industrial, e, por consequência, a sua manutenção em sigilo até a adoção dos procedimentos legais pertinentes é indispensável para a obtenção da proteção almejada; e

Considerando, ainda, o disciplinado pelo ordenamento jurídico brasileiro, em especial pela Lei nº 9.279/96 (Lei de Propriedade Industrial), Lei nº 9.609/98 (Lei de Programa de Computador), Lei nº 9.610/98 (Lei de Direitos Autorais), Lei nº 10.973/04 (Lei de Inovação, regulamentada pelo Decreto nº 5.563, de 11 de outubro de 2005) e Lei Complementar nº 1.049/08 (Lei Paulista de Inovação, regulamentada pelo Decreto nº 54.690, de 18 de agosto de 2009);

firma o EXAMINADOR o presente Termo de Sigilo, nas condições a seguir:

CLÁUSULA PRIMEIRA. O EXAMINADOR compromete-se a manter sigilo em relação a qualquer "Informação Confidencial" a que tiver acesso no exercício de suas atividades de membro de banca examinadora constituída para análise da tese intitulada "**CARACTERIZAÇÃO DA BATATA YACÓN PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA COMO PRODUTO FUNCIONAL**", desenvolvida pelo mestrando **JOSÉ LUCAS DE LIMA** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara-UNESP da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

CLÁUSULA SEGUNDA. A expressão "Informação Confidencial" abrange toda a informação relativa às pesquisas desenvolvidas no escopo da tese a que o EXAMINADOR tenha acesso, sob a forma escrita, verbal ou por quaisquer outros meios de comunicação, inclusive eletrônicos.

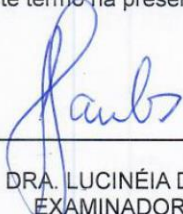
Parágrafo único. Não será considerada "Informação Confidencial" aquela que estiver sob domínio público antes de ser revelada ou disponibilizada ao EXAMINADOR.

CLÁUSULA TERCEIRA. O presente termo vigorará até que os direitos de propriedade intelectual das pesquisas desenvolvidas no escopo da tese estejam devidamente protegidos junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI e junto ao Órgão competente em âmbito internacional pela UNESP.

CLÁUSULA QUARTA. Fica eleito uma das varas da Fazenda Pública Estadual, circunscrição judiciária de São Paulo, Capital, para dirimir dúvidas ou litígios oriundos do presente instrumento.

E para todos os efeitos, firma o presente termo na presença das testemunhas abaixo-assinadas.

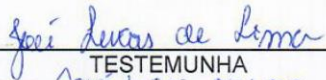
Assis, 31 de janeiro de 2020.



PROFA. DRA. LUCINÉIA DOS SANTOS
EXAMINADOR



TESTEMUNHA
Nome: Aniele Vilella
CPF/MF: 368.997.328-74



TESTEMUNHA
Nome: José Lucas de Lima
CPF/MF: 379.386.578-02



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara




CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO DA BATATA YACÓN PARA PRODUÇÃO DE CERVEJA COMO PRODUTO FUNCIONAL

AUTOR: JOSÉ LUCAS DE LIMA

ORIENTADOR: DARÍO ABEL PALMIERI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E BIOPROCESSOS, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. DARÍO ABEL PALMIERI
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras do Câmpus de Assis da UNESP


Prof. Dr. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras do Câmpus de Assis da UNESP


Profa. Dra. LUCINEIA DOS SANTOS
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras do Câmpus de Assis da UNESP

Araraquara, 31 de janeiro de 2020

Dedico este trabalho primeiramente aos meus pais e especialmente à minha avó Assumpta Zampolli pelos ensinamentos, auxílio, amor e toda a ajuda que me forneceu até hoje, sem os quais jamais estaria aqui. E aos amigos que me apoiaram no desenvolvimento desta dissertação.

Agradecimentos

A princípio agradeço à minha avó Assumpta Zampolli e ao meu avô Albano Guerra por ter feito da minha infância uma das melhores possíveis, pelos ensinamentos que levarei por toda a vida e por sempre me apoiarem nas minhas escolhas.

Agradeço aos meus pais, pois sem eles eu nunca teria chegado até aqui. Agradeço à minha mãe por ter me dado meu primeiro livro e mostrar que eles são as melhores ferramentas contra a ignorância e por ter confiado e incentivado meus sonhos. Agradeço ao meu pai, que nos momentos mais difíceis era o que mais sabia lidar com as pessoas. Agradeço aos dois pelos ensinamentos passados, pelo livre arbítrio que foi me dado, pelo respeito às minhas decisões, por me ajudarem sempre que possível e por todo amor.

Aos meus primos agradeço por serem meus irmãos mais distantes.

Agradeço aos meus professores do cursinho por ter me mostrado que o mundo é bem maior e bem mais lindo que eu poderia um dia imaginar. A vocês, serei eternamente grato, e levarei todos com enorme carinho e amor no coração.

Aos meus amigos, William, Luiza e Érico serei eternamente grato por toda a ajuda que sempre me deram e por estarem ao meu lado quando eu imaginava estar sozinho. Obrigado pelos conselhos, pelas conversas e até mesmo com a ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador Professor Doutor Darío Abel Palmieri pelas orientações ao longo do desenvolvimento da pesquisa, pelas risadas compartilhadas e por me aceitar como seu orientando nesse programa.

Ao pessoal do Fitolab- Laboratório de Fitoterápicos, em especial ao Professor Doutor Regildo Márcio Gonçalves Silva, por me apresentar ao programa e cooperar com todos os estudos dentro do laboratório. Agradeço também aos meus colegas Célia Malagucci, Edson Alves e Pamela Cristina pelo apoio e cooperação no desenvolvimento deste estudo.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

“Só um sentido de invenção e uma necessidade intensa de criar levam o homem a revoltar-se, a descobrir e a descobrir-se com lucidez.”

(Pablo Picasso)

RESUMO

Os alimentos funcionais, que prometem ajudar na cura ou na prevenção de doenças, são a nova tendência do poderoso mercado alimentício neste início do século XXI. Iogurtes, margarinas, leites fermentados, cereais, águas minerais prometem ajudar na cura ou na prevenção de doenças como as cardiovasculares, certos tipos de câncer, alergias e problemas intestinais. Entre os fatores-chave que explicam o êxito dos alimentos funcionais, existe a preocupação crescente pela saúde e pelo bem-estar, mudanças na regulamentação dos alimentos e a crescente comprovação científica das relações existentes entre dieta e saúde. O estresse oxidativo e a hiperglicemia são apontados como gatilhos importantes para dar origem e/ou agravarem doenças agudas e crônicas, estes fatores podem ainda serem intensificados devido à exposição a fatores ambientais, ocupacionais e pela má nutrição. Estudos com vegetais têm demonstrado que os mesmos podem conter compostos para tratar ou prevenir tais complicações. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver uma metodologia de industrialização da batata yacón para produção de cerveja como alimento funcional com atividades antioxidante e antiglicante. Será produzido cerveja a partir das raízes da batata yacón secas. Os testes antioxidantes foram realizados pela técnica de DPPH e FRAP. A atividade antiglicante foi realizada por mobilidade relativa em eletroforese (MRE) de albumina bovina sérica (BSA) reagindo com glicose na presença e ausência de extrato. Para a produção da cerveja foram determinados composição ideal de malte e farinha de batata yacón liofilizada para o processo fermentativo. A produção inicial para análise foi realizada em escala laboratorial para melhor adaptação a escala industrial. Além disso, foram determinados os fatores econômicos sobre o desenvolvimento dos produtos, como os gastos com matéria prima e desenvolvimento e o lucro final sobre o produto finalizado.

Palavras-chave: Batata yacón, Cerveja, Alimento Funcional, Antioxidante.

ABSTRACT

Functional foods, which promise to help cure or prevent disease, are the new trend of the powerful food market in the early 21st century. Yogurts, margarine, fermented milks, cereals, mineral waters promise to help in curing or preventing diseases such as cardiovascular diseases, certain cancers, allergies and intestinal problems. Among the key factors that explain the success of functional foods, there is growing concern about health and well-being, changes in food regulation, and increasing scientific evidence of the relationship between diet and health. Oxidative stress and hyperglycemia are pointed as important triggers to give rise to and / or aggravate acute and chronic diseases, these factors can still be intensified due to exposure to environmental factors, occupational factors and malnutrition. Studies with vegetables have shown that they may contain compounds to treat or prevent such complications. In this context, the objective of this work was to develop a methodology for the industrialization of yacón potato to produce beer as a food that works with antioxidant and antiglycant activity. Beer will be produced from the roots of the dried yacón potato. The antioxidant tests were performed by the DPPH technique, FRAP. The antiglycant activity was performed by relative mobility in electrophoresis (MRE) of bovine serum albumin (BSA) reacting with glucose in the presence and absence of extract. For the production of beer, the ideal malt composition and lyophilized yacón potato flour were determined for the fermentation process. The initial production for analysis was performed in laboratory scale for better adaptation to industrial scale. In addition, economic factors on product development were determined, such as expenditures on raw materials and development and the final profit on the finished product.

Key-Words: Yacón potato, Beer, Functional Food, Antioxidant

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Batata yacón (a: Folhas; b: Raízes; c: Batatas higienizadas e preparadas para consumo).....	23
Figura 2 - Produção de batata yacón ao redor do mundo (pontos pretos indicam confirmo de cultivo em grande escala, pontos cinzas significam produção em menor escala).	23
Figura 3 - Fluxograma do desenvolvimento das diferentes amostras de cerveja.....	38
Figura 4 - Malte pilsen moído.	40
Figura 5 - Amostras de cervejas (Esquerda para a direita: NN, NV/VN e VV).....	42
Figura 6 - Cerveja VN/NV após o processo de liofilização, apresentando memória geométrica das fibras da batata yacón.	43
Figura 7 - Ficha do teste sensorial olfativo.....	45
Figura 8 - (Esquerda): Leitura refratômetro água destilada (valor de calibragem esperado para a água destilada de 0% de brix). (Direita): Leitura refratômetro extrato 10% (valor igual a 25% de brix).	47
Figura 9 - Representação gráfica e equação da reta da atividade antioxidante apresentada pelo extrato de batata yacón diluído em diferentes concentrações.	49
Figura 10 - Gel de corrida em duplicata (da esquerda para a direita: controle, controle positivo, controle negativo e amostra).....	52
Figura 11 - Gel de corrida em duplicata (da esquerda para a direita: controle, controle positivo, controle negativo e amostra) - amplificado.	52
Figura 12 - Eletroforese de diferentes amostras de cervejas (da esquerda para direita: controle (BSA+tampão, controle positivo, controle negativo, cerveja controle, NN, NV/VN e VV.).	55
Figura 13 - Álcool retirados das diferentes amostras de cervejas após o processo de rotaevaporação - linhas azuis indicam o nível do álcool, linhas vermelhas indicam o volume inicial de cerveja exposta ao processo de rotaevaporação.....	56
Figura 14 - Cromatograma em CCD revelada e submetida à luz ultravioleta.....	57
Figura 15 - Software BeerSmith® 3.0, versão trial, utilizado para predição dos valores de custo e venda da cerveja produzida com batata yacón.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diluição do extrato etanólico 10% de batata yacón em diferentes concentrações.....	28
Tabela 2 - Rendimento de secagem de batata yacón.....	46
Tabela 3 - Atividade Antioxidante de extrato de batata yacón em diferentes concentrações.....	48
Tabela 4 - Capacidade de redução férrica de extrato de batata yacón em diferentes concentrações	49
Tabela 5 - Dosagem do teor de fenóis totais presentes em cada concentração de extrato de batata yacón	50
Tabela 6 - Dosagem de flavonoides totais presentes em cada concentração de extrato de batata yacón	51
Tabela 7 - Análise Estatística Descritiva da distribuição do Sexo	57
Tabela 8 - Análise Estatística Descritiva das notas apresentadas.	57
Tabela 9 - Número de acertos na comparação entre as amostras em diferentes recipientes.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EUA	Estados Unidos da América
UE	União europeia
RL	Radicais livres
ERO/ROSasuga	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
EGA/AGE	Espécies de glicação avançada
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
FOS	Fruto-oligossacarídeos
PPM	Parte por milhão
DPPH	Radical 2,2-difenil-1picrilhidrazil
FRAP	Poder redutor férrico
BSA	Albumina sérica bovina
NN	Cerveja produzida a partir de batata yacón nova, recém liofilizada e de fermentação recente
NV/VN	Cerveja produzida a partir de batata yacón estocada e liofilizada há 3 meses e de fermentação recente
VV	Cerveja produzida a partir de batata yacón nova, recém liofilizada e de fermentação antiga
CC	Cerveja controle - Pilsen
AG	Ácido gálico
AC	Ácido cafeico
R	Rutina
Q	Quercetina
μg	Unidade de peso em micrograma
mg	Unidade de peso em miligrama
g	Unidade de peso em grama
Kg	Unidade de peso em quilograma
μL	Unidade de volume em microlitro
mL	Unidade de volume em mililitro
L	Unidade de volume em litro
Hz	Escala numérica de índice de refratação

Sumário

1 - Introdução	18
1.1 - Objetivo	25
2 – Materiais e Métodos	26
2.1 – Coleta e processamento da batata yacón	26
2.2 – Preparação do extrato etanólico	27
2.2.1 – Diluições do extrato etanólico (10%)	27
2.3 – Determinação de sólidos solúveis (Brix)	28
2.4 – Determinação da atividade antioxidante	28
2.4.1 – Preparo reagente DPPH	28
2.4.2 – Preparo tampão acetato	28
2.4.3 – Teste DPPH	29
2.5 - Ensaio do poder de redução férrica (FRAP)	30
2.5.1 – Preparo de solução HCl 40 mM	30
2.5.2 – Solução TPTZ 10 Mm	30
2.5.3 – Solução de cloreto férrico 20 Mm	30
2.5.4 – Tampão acetato 0,3 M (pH 3,6)	31
2.5.5 – Solução reagente FRAP	31
2.5.6 – Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro	31
2.6 – Dosagem fenóis totais	32
2.6.1 – Solução de carbonato de sódio (25%)	32
2.6.2 – Determinação do teor de fenóis totais pelo método de Folin-ciocalteau	32
2.7 - Determinação do teor de flavonoides totais	33
2.7.1 - Solução de nitrito de sódio 5% (p/v)	34
2.7.2 - Solução de cloreto de alumínio 10% (p/v)	34
2.7.3 - Solução de hidróxido de sódio 1M	34
2.7.4 - Determinação do teor de flavonoides totais	34
2.8 - Teste de MRE (Mobilidade Relativa em Eletroforese)	35
2.8.1 - Tampão fosfato 0,1 M pH 8,0	35
2.8.2 – Preparação solução de BSA	36
2.8.3 – Preparação solução ribose 1M	36
2.8.4 – Preparação da solução aminoguanidina (AMD)	36
2.8.5 – Preparação da solução de amostra	36
2.8.6 – Preparação dos ensaios de glicação	36
2.8.7 – Eletroforese em gel de acrilamida	37

2.9 – Produção da cerveja	38
2.9.1 – Plano de produção	38
2.9.2 – Preparo da batata yacón	39
2.9.3 – Produção da Cerveja Controle	39
2.9.4 – Produção da cerveja com adição de batata yacón na etapa de brassagem.....	41
2.9.5 – Produção da cerveja com adição de batata yacón na etapa de pós-fervura	41
2.9.6 – Modelos de cervejas finais	42
2.10 – Preparação das amostras de cervejas para análises.....	42
2.11 – Avaliação do perfil cromatográfico dos extratos (CCD)	43
2.12 – Teste sensorial olfativo	44
2.13 – Análise de custo e lucro sobre o produto final.....	45
3 – Resultados e Discussão	46
3.1 – Rendimento no processo de secagem	46
3.2 – Sólidos solúveis (Brix).....	46
3.3 – Determinação da atividade antioxidante (DPPH).....	48
3.4 - Determinação do poder de redução férrica (FRAP)	49
3.5 – Dosagem do teor de fenóis totais.....	50
3.6 – Dosagem de flavonóides totais.....	51
3.7 - Análise de MRE (mobilidade relativa em eletroforese)	52
3.8 – Desenvolvimento das cervejas	53
3.8.1 – Conformação da batata yacón liofilizada	53
3.8.2 – Adição da batata yacón no início do processo	54
3.8.3 – Adição da Batata no final do processo	54
3.9 – Análise de MRE (mobilidade relativa em eletroforese) das amostras de cervejas.....	54
3.10 – Avaliação do perfil cromatográfico dos extratos (CCD)	56
3.11 – Resultado da pesquisa sensorial	57
3.12 – Análise de custo e lucro sobre o produto final.....	58
4 - Conclusão	60
5 - Referências.....	61

1 - Introdução

A indústria de alimentos é uma das mais importantes no setor econômico brasileiro. No ano de 2017, foi responsável pela movimentação de 642,6 bilhões de reais, aproximadamente 24,8% do faturamento do setor industrial (ABIA, 2019). Apesar da intensa participação no mercado, a indústria de alimentos presencia uma mudança em seus pilares tradicionais e enxerga a necessidade de se adaptar à cultura e sociedade, acompanhando-os de acordo com suas mudanças (BIGLIARDI, *et al.*, 2013).

De acordo com Bigliardi (2013), a indústria de alimentos é considerada como um setor com baixa intensidade de inovações. No entanto, essas inovações, tais como, novos produtos, processos e serviços são importantes instrumentos para as empresas se destacarem e permanecerem no mercado da indústria de alimentos.

Nas últimas décadas, a necessidade do consumidor dentro do ramo alimentício mudou consideravelmente. De fato, a concepção de que o alimento está diretamente associado ao bem-estar e à saúde vem se intensificando entre esse público. Desta forma, os consumidores não veem mais o alimento apenas como uma fonte de reposição de nutrientes e de saciar a fome, mas também como a principal maneira de conter doenças relacionadas à falta de nutrientes ou excesso de compostos e de melhorar o bem-estar físico e mental (BIGLIARDI, *et al.*, 2013; SIRÓ, *et al.*, 2008; URALA, *et al.*, 2003; MENRAD, 2003; ROBERFROID, 2000).

Diante deste cenário, a indústria de alimentos se depara com mudanças não apenas tecnológicas, mas também econômicas, ambas na sociedade e na produção e processamento de alimentos. Tais mudanças requerem modificações diretas dentro da cadeia de produção, percorrendo desde a distribuição até chegar, finalmente, ao consumidor (BIGLIARDI, *et al.*, 2013; JONES, *et al.*, 2007).

Sucintamente, a indústria deve combinar inovações tecnológicas com as inovações culturais e sociais de forma que produza um alimento que satisfaça a necessidade nutricional, pessoal e social de cada consumidor.

De maneira mais específica, as inovações dentro da indústria de alimentos podem ser classificadas dentro de cinco vertentes, baseando-se em Bigliardi (2013): (I) novos alimentos e materiais; (II) inovações em alimentos frescos; (III) novas

técnicas de produção de alimentos; (IV) inovações na qualidade do alimento e (V) novos métodos de empacotamento (embalagens).

Dentre todas as inovações já introduzidas na indústria de alimentos, a que apresenta maior destaque e interesse devido à sua área de pesquisa e mercado é o alimento funcional.

Os alimentos funcionais surgiram em 1984 no Japão. O termo foi empregado no desenvolvimento de um estudo que relacionava a nutrição, satisfação sensorial e fortificação e modulação do sistema fisiológico. De forma mais superficial, o termo foi empregado para definir produtos alimentícios que foram nutricionalmente fortificados com constituintes especiais que possuam efeitos fisiológicos vantajosos (BIGLIARDI, *et al.*, 2013; SIRÓ, *et al.*, 2008; URALA, *et al.*, 2003; MENRAD, 2003; ROBERFROID, 2000).

A terminologia e aplicação do nome Alimentos Funcionais é distinta entre as comunidades ocidentais e orientais. Segundo Siró (2008), no oriente, o principal representante dos alimentos funcionais é o Japão, o qual define os alimentos funcionais como uma classe de alimentos distintas das demais que deve receber selo de autenticidade do FOSHU e que pode ser comercializado na forma de tabletes ou comprimidos. Já a comunidade ocidental, representada principalmente pelos Estados Unidos da América (EUA) e pela União Europeia (EU), define o alimento funcional de forma conceitual: são alimentos semelhantes aos demais, em aparência, mas que foram alterados nutricionalmente para trazer benefícios à saúde, além da nutrição básica. Além disso, são comercializados na mesma classe de alimentos que os alimentos tradicionais já existentes.

Em relação ao faturamento e ao mercado mundial, os alimentos funcionais, em 2008, tiveram uma expectativa de arrecadamento de cerca de 33-48 bilhões de dólares, sendo o maior mercado o dos EUA, seguidos do Japão e, por fim, a EU (tendo como maiores representantes a Alemanha, França e Reino Unido) (BIGLIARDI, *et al.*, 2013; SIRÓ, *et al.*, 2008).

Conforme Siró (2008), o desenvolvimento de um novo alimento custa entre 1 - 2 milhões de dólares, enquanto o desenvolvimento de alimentos funcionais chega a custear quase o triplo. Apesar da diferença de investimentos, a procura pelos alimentos funcionais apresentou constante aumento, assim como os lucros por parte de suas produtoras.

A sociedade moderna, em sua maioria, se encontra envelhecida e com maior expectativa de vida, mudando o mercado de alimentos e requisitando, constantemente, melhoras nos produtos e seus agregados. Diante do exposto, outro ramo industrial se viu atraído pela produção de alimentos funcionais: a indústria farmacêutica (SIRÓ, *et al.*, 2008).

O interesse por parte da indústria farmacêutica se deu, principalmente, pelo curto tempo de desenvolvimento, baixo custo de elaboração (quando comparado com o desenvolvimento de produtos deste segmento) e vasta experiência em organização de triagem clínica para desenvolvimento e comprovação de eficácia do produto. Entre algumas companhias farmacêuticas estão a Novartis Consumer Health, GlaxoSmithKline, Johnson & Johnson e Abbott Laboratories (SIRÓ, *et al.*, 2008).

Com enfoque científico, os alimentos funcionais podem ser definidos como sendo um alimento consumido como parte da dieta que, além do fornecimento de nutrientes básicos, apresente benefícios para o funcionamento metabólico e fisiológico, trazendo benefícios à saúde física e mental e prevenindo de doenças crônicas degenerativas (ANGELIS, 2001).

Esses benefícios fornecidos pelos alimentos funcionais garantem a manutenção da saúde, modulando a fisiologia do organismo, promovendo efeito antioxidantes, hipoglicêmico, hipocolesterolemiantes, hipotensivo, redução dos riscos de aterosclerose, anticancerígenos, estimuladores do sistema imune, entre outros (GOMES, 2002).

Assim, os danos deletérios causados pelos radicais livres e muitas das doenças crônicas, como o diabetes e até o câncer, podem ser prevenidas com o consumo diário de alimentos funcionais, ou mesmo, aos que já apresentam a doença, podem reduzir danos consequentes, por meio da prevenção de degenerações sistêmicas e orgânicas, causadas pelo estresse oxidativo e hiperglicemia (GAMARANO, *et al.*, 2004).

O estresse oxidativo é uma condição biológica em que ocorre desequilíbrio. Há um aumento significativo do potencial de redução no organismo, devido a um aumento na produção de compostos químicos com elevado grau de reatividade, e a contenção desses através de sistemas biológicos, neutralizando-os ou reparando danos por eles gerados, não são suficientes.

Esses compostos são principalmente representados por duas classes de radicais livres (RL), espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (ERN). O desequilíbrio entre a produção de RL e as defesas do organismo gera uma condição que pode promover desordens que provocam e contribuem tanto no processo de envelhecimento, como também nas complicações biológicas, incluindo inflamação crônica, doenças neurodegenerativas e até mesmo diabetes (ROESLER, *et al.*, 2007).

Outro processo oxidativo que gera complicações para saúde é a glicação. Ela é provocada por açúcares redutores que reagem com componentes celulares, principalmente proteínas, por meio de complexas reações, conhecidas como reações de Maillard. O resultado final da glicação é uma classe de compostos modificados denominados produtos de glicação avançada (AGE). Esses compostos e as reações nesse contexto estão relacionados às alterações do nível de citocinas, hormônios e radicais livres, e complicações mais sérias como cataratas, retinopatia, nefropatias e especialmente doenças vasculares (GOLDIN, *et al.*, 2006).

No que diz respeito à origem dos RL, há os de fonte endógena, os quais são produzidos pelo metabolismo normal e também os de fonte exógena, que são devidos principalmente a ingestão, inalação e radiações, principalmente os solares (ROESLER, *et al.*, 2007).

As radiações solares surgem com uma amplitude extensa em termos patológicos, pois além de gerar RL, alteram diretamente estruturas celulares, incluindo o material genético, podendo propiciar o surgimento de câncer, como o melanoma. As faixas de comprimento de onda que apresentam os efeitos mais danosos são UVA [UVA2 (320 - 340 nm) e UVA1 (340 - 400 nm)] e UVB (290 - 320 nm) (ANGERHOFER, *et al.*, 2008; ZAID, *et al.*, 2009).

Pesquisas vêm demonstrando que antioxidantes de origem vegetal têm muita importância nesse contexto, com destaque para compostos fenólicos, reduzindo ou até mesmo eliminando os efeitos deletérios dos processos oxidativos, podendo assim ser intensivamente empregados na indústria de alimentos e farmacológica (ROESLER, *et al.*, 2007).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado uma relação inversa entre o consumo de frutas, legumes e cereais, ricos em compostos fenólicos e a incidência de doença cardíaca coronária e certos tipos de câncer. As atividades químicas de

polifenóis em termos de suas propriedades redutoras, doando hidrogênio ou elétrons, prevê o seu potencial de ação como neutralizador de radicais livres.

Paralelamente, existe a possibilidade de aplicar o desenvolvimento sustentável, aproveitando as potencialidades regionais, de forma a solucionar difíceis problemas econômicos e socioambientais, mostra-se uma solução para frear o desmatamento e preservar a riqueza biológica do país. Nesse contexto, as opções para a produção de riquezas naturais são diversas, uma delas é a exploração de vegetais e seus compostos, podendo ser fonte de produtos alimentícios, cosmetológicos, farmacológicos e de biocombustíveis (PEREIRA, 2007).

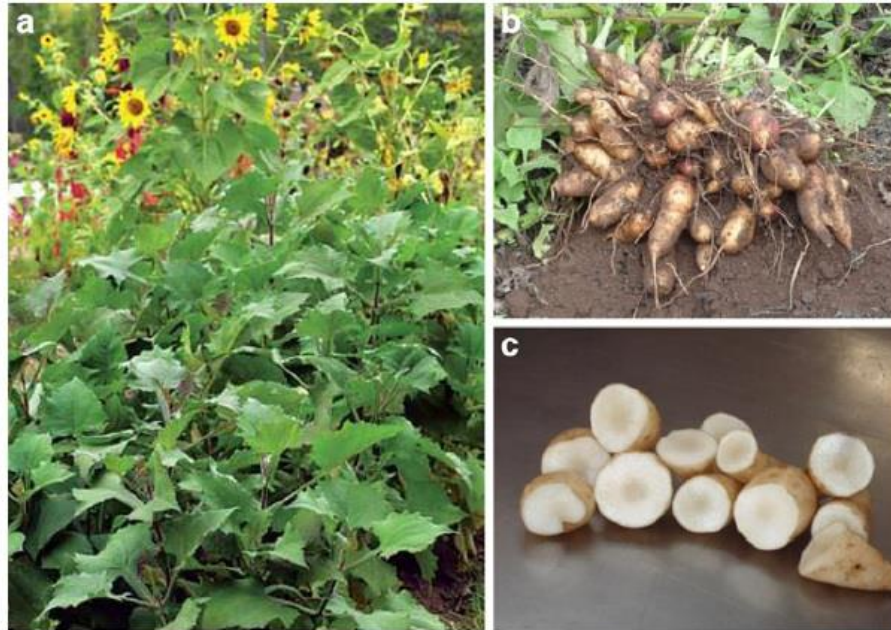
Diante do exposto, o estudo de espécies tuberosas cultivadas no Brasil, pouco conhecidas pela população consumidora e da maior parte dos produtores, caracteriza-se por ser uma fonte acessível e viável para dar origem a novos produtos alimentícios com ação funcional. Entre as espécies vegetais passíveis de estudos e industrialização destaca-se a *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. (yacón) (batata yacón).

A yacón (*Smallanthus sonchifolius*) (Figura1) é uma planta perene que possui sabor adocicado em suas raízes. Seus tubérculos variam de tamanho (15-20cm) e podem ser de diferentes cores (marrom, rosa, roxo ou creme). Uma planta é capaz de produzir até 10 kg de tubérculos, que são, normalmente, consumidos em natura e seu sabor e textura são aproximados a uma combinação de maçã e melancia (OJANSIVU, *et al.*, 2011; DELGADO, *et al.*, 2013; LAGO, *et al.*, 2012; SANTANA, *et al.*, 2008).

Yacón é típica da região dos Andes, fazendo parte da dieta desta população desde os tempos pré-colombianos. A partir do século 20, seu cultivo se espalhou para diversas regiões do mundo (Figura 2), como Nova Zelândia, Europa, Estados Unidos, Japão e Brasil, sendo que, neste último, a yacón se tornou um ramo da agricultura importante, principalmente no estado de São Paulo, tendo o seu berço a cidade de Capão Bonito (DELGADO, *et al.*, 2013).

Em conformidade com Ojansivu (2011) a composição de água da yacón pode ultrapassar 70% em peso fresco. O tubérculo seco pode conter 40 – 70% de fruto-oligossacarídeos (FOS) e 15-40% de sua composição são de açúcares simples, tais como sacarose, glicose e frutose. As porcentagens em peso seco restante são de pequenas concentrações de nutrientes, com exceção do potássio.

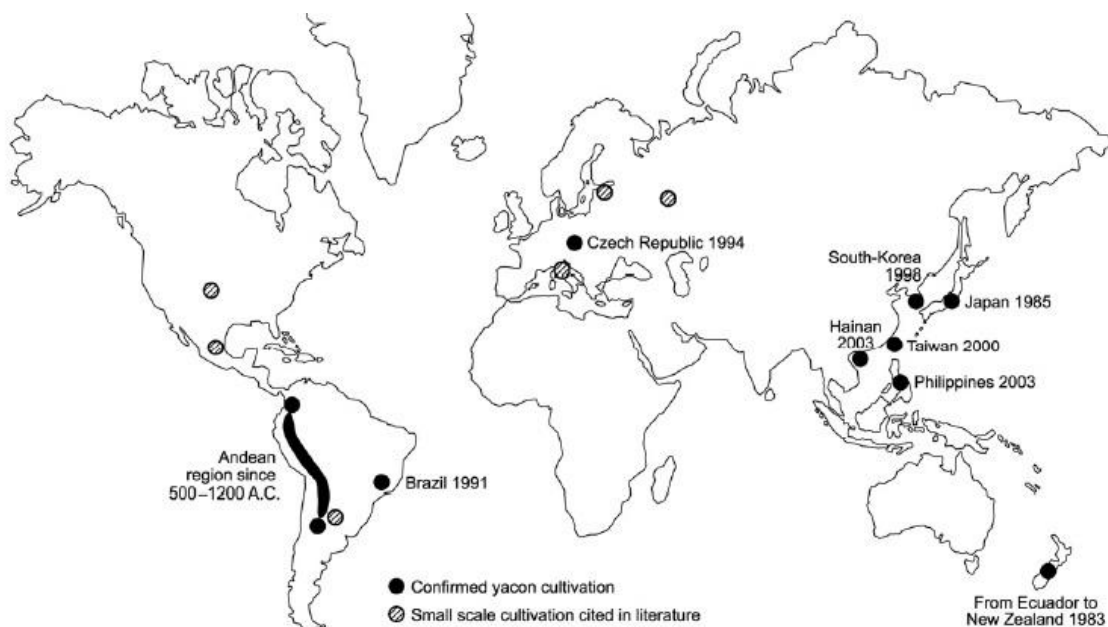
Figura 1 - Batata yacón (a: Folhas; b: Raízes; c: Batatas higienizadas e preparadas para consumo).



DELGADO, et al., 2013.

No entanto, existe diferenças nas composições de acordo com a região de produção. Segundo Delgado (2013), as batatas analisadas no Brasil e na região andina apresentaram diferenças em suas composições. No Brasil, as batatas apresentaram 34-55% de FOS, 13-14% de glicose, 13-14% de frutose e 10% de sacarose, enquanto que no Peru, as batatas apresentaram de 40-70% de FOS, 5-15% de glicose, 5-15% de frutose e 5% de sacarose.

Figura 2 - Produção de batata yacón ao redor do mundo (pontos pretos indicam confirmação de cultivo em grande escala, pontos cinzas significam produção em menor escala).



DELGADO, et al., 2013.

Apesar destas distinções, a batata yacón tornou-se um produto mundialmente procurado nos mercados e no meio científico, principalmente por conta de seus componentes bioativos como os frutanos, do tipo inulina e fruto-oligossacarídeos (FOS). Seus principais compostos FOS são kestose, nistose e 1-fructofuranosil nistose. Estes frutanos possuem a capacidade de resistir às enzimas digestivas do corpo humano, passando pelo trato digestivo sem serem metabolizados. Esta sua propriedade, garante que seu consumidor receba baixo conteúdo energético ($1,5\text{kcal/g}^{-1}$) e ainda tenha em seu organismo um alimento que atua de forma similar às fibras alimentares (GUSSO, A.P. *et al.*, 2015).

Ademais, ainda conforme Gusso (2015), ao chegar na região do colón e pela ação das bifidobactérias são liberados ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, propiônico e butírico), assim como CO_2 , CH_4 e H_2 . Devido a essa ação a absorção de cálcio, ferro e magnésio são facilitados. Por fim, os FOS conjuntamente com a inulina são capazes de inibir o estágio inicial do câncer de colón, reduzir os níveis de colesterol, pressão arterial e glicose no sangue, assim como são capazes de regular e melhorar as funções intestinais.

Ainda, a batata yacón possui elevado efeito antioxidante, Maydata (2002), Gusso (2015) e Khajehei (2018) confirmaram que a batata yacón, tanto as suas folhas como o tubérculo, são ricos em frutanos e compostos fenólicos, tendo como seus principais representantes, ácido cafeico e seus derivados (ácido clorogênico e L-triptofano). Além disso, as raízes podem apresentar cerca de 200 mg de compostos fenólicos a cada 100 g de matéria seca comestível.

Como flavonoide, a batata yacón apresenta como seu maior representante a quercetina. Sendo esta anti-inflamatória e atua no sistema imune. É considerada anticarcinogênica, antiviral, influencia na inibição de cataratas em diabéticos, é um composto antialérgico, além de ser um suplemento cardiovascular. Sucos de yacón (batata) contém cerca de 850 ppm de compostos fenólicos, como o ácido clorogênico, considerado o composto antioxidante primário da batata yacón (DELGADO, *et al.*, 2013).

Não o bastante, estudos recentes demonstram a importante atuação da batata yacón sobre o índice glicêmico e perda de peso em animais diabéticos, pois o consumo dos FOS presentes nos tubérculos de yacón, melhora na liberação de insulina e/ou na atividade de demanda por insulina. Ainda, a ingestão regular de

yacón exerce efeitos redutores de lipídios, através da ativação da enzima lipase lipoproteica e um leve aumento nos níveis plasmáticos de insulina (DELGADO, *et al.*, 2013).

Desta forma, devido ao seu elevado potencial prebiótico, os FOS presentes na batata yacón estão sendo estudados com o objetivo de desenvolver novos alimentos para esse grupo de consumidores (ALBUQUERQUE, *et al.*, 2011). No entanto, Gusso (2015) demonstrou que grande parte dos alimentos e tecnologias desenvolvidos com a batata yacón se limitam a trabalhar apenas com farinhas produzidas pelas batatas.

Buscando alimentos ainda pouco explorados para a produção em coadjuvação da batata yacón, há as bebidas alcoólicas fermentáveis, extremamente consumidas no Brasil e no mundo (BNDES, 2014). No ano de 2011, o Brasil foi o terceiro país a consumir mais cerveja no mundo, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos.

Conforme descrito por Gianezini (2018), em 2014 foram produzidos 14 bilhões de litros de cerveja no país, gerando um faturamento de 70 bilhões de reais, colocando o Brasil na 3ª posição dentre os países que mais produzem cerveja, sendo o setor cervejeiro responsável por 1,6% do PIB nacional. Apesar dos dados favoráveis, em 2014, o Brasil teve consumo anual de 66,9 litros de cerveja por pessoa, classificando-o em 27º lugar no ranking mundial de consumo *per capita*.

A partir desses dados, fica claro a necessidade do desenvolvimento de produtos diferenciados no setor cervejeiro. Assim, surge um novo nicho no Brasil, intitulado de mercado de cervejas “especiais” ou “artesaniais”, que aos poucos se flexibilizam, deixando de lado sua tradição familiar, vinda dos Estados Unidos do século XX, se renovando e se adaptando a novos sabores e funções, dependendo das necessidades da sociedade a que está inserido.

1.1 - Objetivo

Este estudo é um empenho para desenvolver uma cerveja com a batata yacón, preservando o ácido cafeico e seus derivados (ácido clorogênico e L-triptofano), os seus açúcares de cadeia longa (FOS) para a produção de uma cerveja funcional.

2 – Materiais e Métodos

2.1 – Coleta e processamento da batata yacón

A batata yacón foi obtida a partir de produtores da região de Assis/SP e com assistência técnica mantida pela APTA - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios de Assis, garantindo a origem e idoneidade do produto.

A coleta e processamento da batata yacón seguiu a metodologia de Medeiros (2015), com algumas alterações.

Inicialmente as batatas yacón *in natura* foram lavadas em água corrente e então pesadas para que no final do processo fosse estimado o rendimento da farinha (%). As batatas foram sanitizadas em solução clorada (150 ppm por 15 minutos) e em seguida lavadas novamente para retirada do excesso de cloro. Seguidamente, as batatas foram cortadas em cubos e, para inativar as enzimas responsáveis pelo escurecimento (polifenoloxidase e peroxidase), as mesmas foram imersas em uma solução de Bicarbonato de cálcio (3%) por 30 minutos. Após esse período, as batatas foram retiradas da solução de cloreto de cálcio e levadas ao processador para realizar o corte das mesmas em pequenas rodela de fina (2mm) espessura (*chips*).

Por fim, os *chips* da batata yacón foram alocadas em placas de metal e envoltas por papel filme e levadas ao congelador por um período de 24 horas. Decorrida as 24 horas, as placas contendo os *chips* congeladas tiveram seu papel filme furado e então foram levadas ao liofilizador (Liotop®, L101) previamente esterilizado, onde permaneceram por 72 horas a uma temperatura de -59°C.

Finalmente, os *chips* secos foram retirados das placas e armazenadas em fracos com vedação previamente limpos, para evitar contaminação e contato com a umidade.

O rendimento de secagem foi realizado tanto para o processo descrito acima quanto para a secagem em estufa de circulação de ar, local onde as batatas *chips* foram submetidas a secagem a 50°C por período de 3 dias. Seus cálculos foram realizados conforme a equação 1:

$$R = \frac{PS}{PB} \cdot 100\% \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

R = Rendimento em (%);

PS = Peso Seco da batata (kg), pós liofilização ou secagem em estufa;

PB = Peso Bruto da batata (kg), antes da liofilização ou secagem na estufa.

2.2 – Preparação do extrato etanólico

Para a preparação do extrato utilizou-se a extração direcionada de alta eficiência.

Primeiramente, utilizando-se da balança analítica (Marte®, AL500C) e um béquer, foram pesados 10g de *chips* de batata yacón, e em seguida adicionado 100 mL de etanol P.A.. O béquer contendo a mistura foi envolto por papel metálico para evitar contato com a luz e levado ao agitador magnético (Marconi®, MA085), permanecendo sob agitação por 30 minutos a uma temperatura de 60°C.

Seguidamente, o béquer foi colocado no ultrassom, onde permaneceu por 3 ciclos de 15 minutos a 50 Hz, com descanso de 5 minutos entre cada ciclo.

Por fim, a solução do béquer foi submetida à filtração com auxílio da bomba a vácuo (Tecnal®, TE058) gerando o extrato etanólico 10%. O extrato foi armazenado em frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.2.1 – Diluições do extrato etanólico (10%)

As diluições foram trabalhadas em porcentagem (%) para se realizar as análises posteriores. As diluições foram feitas com o extrato etanólico 10%, preparado anteriormente, diluindo-o em etanol P.A. até alcançar o volume máximo de 1 mL para cada faixa de concentração. As diluições estão detalhadas na Tabela 1.

Após diluição, os extratos foram armazenados em tubos plásticos e mantidos em geladeira com proteção contra a luz.

Tabela 1 - Diluição do extrato etanólico 10% de batata yacón em diferentes concentrações.

Diluições Extrato (%)	Extrato etanólico 10 %	Etanol P.A.
100 %	5 mL	-
50 %	2,5 mL	2,5 mL
25 %	1,25 mL	3,75 mL
1 %	0,05 mL	4,95 mL
0,01%	0,0005 mL	4,9995 mL

2.3 – Determinação de sólidos solúveis (Brix)

Para a determinação do Brix, utilizou-se do refratômetro portátil, comparando as leituras com água destilada e, posteriormente, extrato etanólico 10%. Ambas foram analisadas à temperatura de 20°C e, para sua determinação, utilizou-se da Tabela apresentada em Anexo A.

2.4 – Determinação da atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante do extrato etanólico em diferentes concentrações (100%, 50%, 25%, 1% e 0,01%), utilizou-se do método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (BRAND-WILLIAMS, 1995).

2.4.1 – Preparo reagente DPPH

Em um balão volumétrico de 100 mL previamente limpo, adicionou-se 0,019715 g de DPPH em 100 mL de etanol em agitação para ocorrer a dissolução. Por fim, quando já diluído o DPPH em etanol, o mesmo foi armazenado em frasco âmbar e acondicionado em geladeira.

2.4.2 – Preparo tampão acetato

Com auxílio de um béquer previamente limpo, pesou-se em balança de precisão 5,44 g de acetato de sódio e, posteriormente, adicionou-se 390 mL de água destilada. Após a homogeneização da mistura, o pH foi corrigido para 5,5 com ácido acético. Por fim, toda mistura foi transferida para uma proveta e seu volume foi

completado com água destilada até atingir 400 mL, sendo posteriormente armazenado, em frasco âmbar e acondicionado, em geladeira.

2.4.3 – Teste DPPH

Os testes foram realizados em triplicata para fins estatísticos. Para o preparo do branco, adicionou-se 1,25 mL de etanol e 1 mL de tampão acetato. Para o preparo do controle, se fez o mesmo que para o branco, no entanto, acrescentou-se 0,25 mL de reagente DPPH. Por fim, para o preparo das amostras, seguiu-se o padrão do controle e adicionou-se 50 µL de extrato de cada grupo de análise.

Após o preparo das amostras, controle e branco, todos os tubos foram agitados com auxílio do agitador de tubos (LOGEN®, vortex motion II), assim, os extratos reagiram com o radical DPPH por um período de 30 minutos em ambiente de pouca luminosidade e, em seguida, foram submetidos ao espectrofotômetro UV-Vis a um comprimento de onda de 517 nm.

O cálculo da atividade antioxidante foi efetuado de acordo com a equação 2:

$$AA (\%) = \frac{(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}})}{A_{\text{controle}}} \cdot 100$$

Onde:

AA (%) = Porcentagem de antioxidante;

Acontrole = Absorbância do controle (contêm todos os reagentes exceto a amostra);

Aamostra = Absorbância da amostra após 30 minutos.

A concentração eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50 % (EC50), foi calculada a partir de uma curva de regressão linear, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) ou do controle positivo (ácido gálico) e na ordenada a porcentagem de atividade antioxidante.

2.5 - Ensaio do poder de redução férrica (FRAP)

O poder redutor férrico (FRAP) dos extratos dos frutos foi testado utilizando ensaio de Oyaizu (1986), conforme descrito abaixo.

2.5.1 – Preparo de solução HCl 40 mM

Dentro de uma capela de exaustão, adicionou-se 400 mL de água destilada em um balão volumétrico de 1 L, em seguida, adicionou-se 3,34 mL de HCl concentrado. Por fim, completou-se o volume do balão volumétrico com água destilada e então transferiu-se o conteúdo para um frasco âmbar, mantendo-o sob refrigeração. Seu tempo de armazenamento é indeterminado.

2.5.2 – Solução TPTZ 10 Mm

Com o auxílio da balança analítica (SHIMADZU®, AUY220), pesou-se em um béquer previamente limpo 0,156 g de reagente TPTZ (2,3,6 – tris (2-piridil)-s-triazina). Seguidamente, adicionou-se 25 mL de solução HCl 40 mM para dissolver o reagente. Após a dissolução, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL que então foi completado com HCl 40 mM. Após a preparação, o conteúdo do balão foi transferido para um frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.5.3 – Solução de cloreto férrico 20 Mm

Com o auxílio da balança analítica, pesou-se em um béquer previamente limpo 0,156 g de cloreto férrico. Seguidamente, adicionou-se 25 mL de água destilada. Após a dissolução, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL que então foi completado com água destilada. Após a preparação, o conteúdo do balão foi transferido para um frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.5.4 – Tampão acetato 0,3 M (pH 3,6)

Com o auxílio da balança analítica, pesou-se em um béquer previamente limpo 3,1 g de acetato de sódio. Seguidamente, adicionou-se 16 mL de ácido acético glacial. Após a dissolução, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 1 L que então foi completado com água destilada. Após a preparação, o conteúdo do balão foi transferido para um frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.5.5 – Solução reagente FRAP

Em um béquer previamente limpo, adicionou-se 25 mL de tampão acetato 0,3 M. Em seguida, adicionou-se 2,5 mL de solução TPTZ 10 mM e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico 20 mM. Após a homogeneização, a solução FRAP foi utilizada de imediato para a realização dos testes.

2.5.6 – Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro

Os testes foram realizados em triplicata para fins estatísticos. Para o preparo do branco, utilizou-se a solução FRAP. Nos demais tubos, foram pipetados 90 µL de amostra, 270 µL de água destilada e 2,7 mL de solução reagente FRAP. Seguidamente, todos os tubos foram agitados com auxílio de um agitador de tubos e então levados para o banho maria a 37°C, onde permaneceram por 30 minutos.

Os tubos de ensaio foram retirados do banho maria (CIENLAB®) e levados para espectrofotômetro onde se realizou a leitura sob o comprimento de onda de 595 nm.

Após a leitura, as absorbâncias foram analisadas e foi determinada a média das triplicatas para cada concentração utilizada. A partir disso, suas médias de absorbância foram substituídos na equação 3, obtida através da curva padrão (Anexo C) para se calcular a concentração em µM equivalente em Trolox:

$$y = 0,0011x + 0,0263 \quad \text{(Equação 3)}$$

Para transformar o resultado obtido por x ($\mu\text{M/L}$) para $\mu\text{M/g}$ de extrato seco, utilizou-se da equação 4:

$$C = c \cdot \frac{V}{m} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

C = Concentração equivalente de Trolox em $\mu\text{M/g}$ de extrato seco;

c = Concentração equivalente de Trolox em $\mu\text{M/L}$ obtido a partir da Eq. 3;

V = Volume do extrato utilizado no teste em L;

m = Peso seco do extrato contido no volume utilizado no teste.

2.6 – Dosagem fenóis totais

O método utilizado foi o de *Folin-Ciocalteu*, segundo Stagos (2012), para a determinação dos compostos de fenóis totais, utilizando-se ácido gálico como padrão de comparação.

2.6.1 – Solução de carbonato de sódio (25%)

Com o auxílio da balança analítica, pesou-se em um béquer previamente limpo 250 g de carbonato de sódio. Seguidamente, adicionou-se 750 mL de água destilada para diluir o reagente. A mistura final foi armazenada em frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.6.2 – Determinação do teor de fenóis totais pelo método de *Folin-ciocalteu*

Experimento realizado em triplicata para fins estatísticos. Com auxílio de micropipeta transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL do extrato para tubos de ensaio previamente limpos. Acrescentou-se 5 mL de água destilada e deionizada e misturou-os com 0,5 mL do reagente *Folin-ciocalteu*.

Para o branco, utilizou-se 5,1 mL de água destilada e deionizada e misturou-se com 0,5 mL do reagente *Folin-ciocalteu* e, por fim, o homogeneizou. Após este processo, aguardou-se 3 minutos em temperatura ambiente e ambiente protegido de luz. Seguidamente, adicionou-se 1,4 mL de solução de carbonato de sódio 25% e 3

mL de água deionizada. Com auxílio de um agitador de tubos, agitou-se os tubos e os manteve no escuro em temperatura ambiente por 1 hora.

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (BEL®, UV-M51) a 765 nm.

Após a leitura, as absorbâncias foram analisadas e foi feita a média das triplicatas para cada concentração utilizada. A partir disso, suas médias de absorbância foram substituídos na equação 5, obtida através da curva padrão (Anexo B) para se calcular a concentração em µg/mL equivalente em ácido gálico na amostra:

$$y = 0,0009x - 0,0217 \quad \text{(Equação 5)}$$

Para transformar o resultado obtido por x (µg/mL) para mg/g de extrato seco, utilizou-se da equação 6:

$$C = c \cdot \frac{V}{m} \quad \text{(Equação 6)}$$

Onde:

C = Concentração fenóis totais equivalente a ácido gálico em mg/g de extrato seco;

c = concentração de fenóis totais equivalente a ácido gálico em mg/mL obtido a partir da Eq. 5;

V = Volume do extrato utilizado no teste em mL;

m = Peso seco do extrato contido no volume utilizado no teste.

2.7 - Determinação do teor de flavonoides totais

A determinação dos teores de flavonoides totais dos extratos foi quantificada por espectrofotometria, e as amostras preparadas de acordo com metodologia de Yao (2013), conforme descrito abaixo.

2.7.1 - Solução de nitrito de sódio 5% (p/v)

Com o auxílio da balança analítica, pesou-se em um béquer previamente limpo 5 g de nitrito de sódio. Seguidamente, adicionou-se 95 mL de água destilada para diluir o reagente. A mistura final foi alocada em frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.7.2 - Solução de cloreto de alumínio 10% (p/v)

Com o auxílio da balança analítica, pesou-se em um béquer previamente limpo 10 g de cloreto de alumínio. Seguidamente, adicionou-se 90 mL de água destilada para diluir o reagente. A mistura final foi alocada em frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.7.3 - Solução de hidróxido de sódio 1M

Com o auxílio da balança analítica, pesou-se em um béquer previamente limpo 4 g de hidróxido de sódio. Seguidamente, adicionou-se 40 mL de água destilada. Após a dissolução, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL que então foi completado com água destilada. Após a preparação, o conteúdo do balão foi transferido para um frasco âmbar e mantido sob refrigeração.

2.7.4 - Determinação do teor de flavonoides totais

O experimento foi realizado em triplicata para fins estatísticos. Com auxílio de micropipeta transferiu-se uma alíquota de 1 mL da amostra para tubos de ensaio previamente limpos. Seguidamente acrescentou-se 4 mL de álcool 70% e misturou-os com 0,5 mL de solução de nitrito de sódio 5% e manteve-se por descanso por 6 minutos.

Decorridos os 6 minutos, adicionou-se 0,5mL de solução de cloreto de alumínio 10% e 3 mL de solução de hidróxido de sódio 1M. Em seguida, adicionou-se 1mL de água destilada e, em seguida, com auxílio de um agitador de tubos, agitou-se os tubos de ensaio e, em seguida, os manteve em repouso por 15 minutos a temperatura ambiente.

A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (BEL®, UV-M51) a 510 nm.

Após a leitura, as absorbâncias foram analisadas e foi feita a média das triplicatas para cada concentração utilizada. A partir disso, suas médias de absorbância foram substituídas na equação 7, obtida através da curva padrão (Anexo B) para se calcular a concentração de flavonoides equivalente em rutina presente na amostra ($\mu\text{g/mL}$):

$$y = 0,001x - 0,0042 \quad (\text{Equação 7})$$

Para transformar o resultado obtido por x ($\mu\text{g/mL}$) para mg/g de extrato seco, utilizou-se da equação 8:

$$C = c \cdot \frac{V}{m} \quad (\text{Equação 8})$$

Onde:

C = Concentração flavonoides equivalente em rutina em mg/g de extrato seco;

c = Concentração de flavonoides equivalente a rutina em mg/mL obtido a partir da Eq. 7;

V = Volume do extrato utilizado no teste em mL ;

m = Peso seco do extrato contido no volume utilizado no teste.

2.8 - Teste de MRE (Mobilidade Relativa em Eletroforese)

Para determinação da atividade antiglicante, o método utilizado foi adaptado de Ledesma-Osuna *et al.* (2008). A mobilidade relativa em eletroforese foi definida como a taxa de distância migrada da origem pelo BSA com diferentes tratamentos versus BSA não tratado.

2.8.1 - Tampão fosfato 0,1 M pH 8,0

Com auxílio da balança de precisão (SHIMADZU®, AUY220) pesou-se 1,74g de fosfato de potássio bifásico anidro em um béquer previamente limpo. Seguidamente, dissolveu-se o conteúdo em 100 mL de água destilada.

Em um outro béquer previamente limpo, pesou-se 1,36g de fosfato de potássio monobásico anidro, e o dissolveu em 100 mL de água destilada. Por fim, corrigiu-se o pH da primeira solução para 8,0 utilizando-se da última preparação.

2.8.2 – Preparação solução de BSA

Em um béquer previamente limpo e com auxílio da balança de precisão, pesou-se 0,1 g de BSA (albumina sérica bovina). Em seguida, adicionou-se 5 mL de solução tampão fosfato 0,1M (pH 8,0).

2.8.3 – Preparação solução ribose 1M

Em um béquer previamente limpo e com auxílio da balança de precisão, pesou-se 1,5 g de ribose. Em seguida, adicionou-se 10 mL de solução tampão fosfato 0,1M (pH 8,0).

2.8.4 – Preparação da solução aminoguanidina (AMD)

Em um béquer previamente limpo e com auxílio da balança de precisão, pesou-se 22 mg de AMD. Em seguida, adicionou-se 5 mL de solução tampão fosfato 0,1M (pH 8,0).

2.8.5 – Preparação da solução de amostra

Em um béquer previamente limpo e com auxílio da balança de precisão, pesou-se 0,01 g de batata yacón liofilizada. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução tampão fosfato 0,1M (pH 8,0).

2.8.6 – Preparação dos ensaios de glicação

Para a preparação dos ensaios utilizou-se de tubos de ensaio com tampa. Para o grupo Controle adicionou-se ao tubo 1 mL de Solução BSA e 3 mL de solução tampão fosfato.

Para o grupo positivo adicionou-se ao tubo 1 mL de solução BSA, 1 mL solução ribose e 2 mL de solução tampão fosfato. Para o grupo negativo, adicionou-se a mesma quantidade de solução ribose e BSA, porém, apenas 1 mL de solução tampão fosfato e 1 mL de AMD. Para o grupo contendo a amostra adicionou-se o mesmo que para o grupo negativo, substituindo a solução de AMD por 1 mL da solução de amostra.

Após a preparação, os tubos com tampa foram levados à estufa bacteriológica (Olidex®, CZ), onde permaneceram por 7 dias a uma temperatura de 37°C.

2.8.7 – Eletroforese em gel de acrilamida

Decorridos os sete dias de glicação, as amostras contidas em cada tubo foram submetidas à eletroforese em gel de acrilamida. Para tanto, utilizou-se da cuba de eletroforese, onde, inicialmente, colocou-se o pente de formação de poços na câmara de eletroforese e demarcou uma linha com 1 cm abaixo da altura do pente. Seguidamente, retirou-se o pente e adicionou-se o gel de corrida (acrilamida 22,2%, bis 0,6%, tampão tris 1M (pH 8,8), água destilada, SDS 10%, persulfato de amônio 10% e TEMED) até atingir a marcação realizada anteriormente. A formação de bolhas foi evitada com auxílio de uma agulha previamente esterilizada.

Após a secagem do gel de corrida, adicionou-se o gel de empacotamento (acrilamida 22,2%, bis 0,6%, tampão tris 1M (pH 6,8), água destilada, SDS 10%, Persulfato de Amônio 10% e TEMED) e o pente. Após a polimerização, alocou-se a câmara de eletroforese no tanque de eletroforese, onde foi adicionado o tampão de corrida (pH 8,3) e então, cuidadosamente, retirado o pente.

Em microtubos limpos, pipetou-se as amostras de cada grupo e solução tampão na proporção de 1:2. Seguidamente, os microtubos foram agitados e, então, 10-15 µL de cada microtubo foi coletado e depositado nos poços do gel de empacotamento. Por fim, completou-se o tanque de eletroforese com tampão de corrida e ligou-se o equipamento à fonte, onde permaneceu a uma voltagem de 80V e corrente de 30 mA até as bandas saírem do gel de empacotamento. Seguidamente, a voltagem e corrente são alteradas para 100 V e 40 mA. O tempo de corrida total estimado foi de 2 a 3 horas.

Após completada a corrida, o gel entre os vidros da câmara de eletroforese foi retirado com auxílio de uma espátula e levado ao recipiente contendo o corante *Coomassie Blue*, permanecendo sob agitação por 20 minutos com auxílio de agitador de bandeja (BIOMIXER®, TS-2000A).

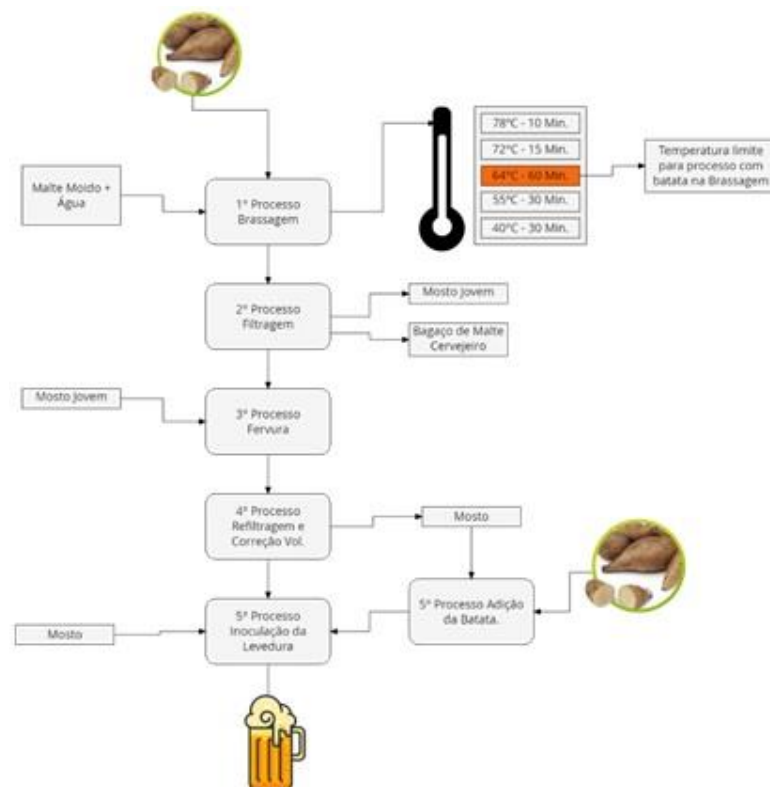
Após o processo de coloração, o gel foi descorado com solução descorante (etanol, ácido acético glacial e água destilada) em 6 ciclos de agitação de 20 minutos, trocando a solução descorante entre o intervalo de cada ciclo. Por fim, o gel obtido foi armazenado em geladeira coberto por água destilada.

2.9 – Produção da cerveja

2.9.1 – Plano de produção

O plano de produção indica as diferentes amostras de cervejas que foram produzidas, através da utilização do kit-cervejeiro e o fluxograma de etapas. Para cada litro de cerveja produzido foram utilizados 0,250 kg de malte pilsen, 1,5 g de lúpulo saaz a.a. 7,8% e 1 g de levedura liofilizada para cada 1 L, ou 7,5 mL de inóculo já preparado. Nas descrições das etapas seguintes, consideraremos a explicação baseada na produção de 1 litro de cerveja.

Figura 3 - Fluxograma do desenvolvimento das diferentes amostras de cerveja.



Foram avaliados os tempos de armazenamento da cerveja e das batatas liofilizadas, a interferência da batata liofilizada pulverizada e em flocos, e a interação do local de armazenamento com a parcela sensorial da cerveja.

2.9.2 – Preparo da batata yacón

A coleta e processamento das batatas para a produção de cerveja seguiram a mesma metodologia apresentada no item 2.1 com algumas alterações.

Inicialmente as batatas *yacón in natura* foram lavadas em água corrente e sanitizadas em solução clorada (150 ppm por 15 minutos) e, em seguida, lavadas novamente para retirada do excesso de cloro. Seguidamente, as batatas foram cortadas em cubos e, para inativar as enzimas responsáveis pelo escurecimento (polifenoloxidase e peroxidase), as mesmas foram imersas em uma solução de bicarbonato de sódio (3%) por 30 minutos. Após esse período, as batatas foram retiradas da solução de cloreto de cálcio e levadas ao processador para realizar o corte das mesmas em pequenas rodela de fina (2 mm) espessura (*chips*) e imersas novamente na solução de Bicarbonato de sódio (3%).

Por fim, os *chips* da batata *yacón* foram retiradas da solução e alocadas em placas de metal e envoltas por papel filme e levadas ao congelador por um período de 24 horas à temperatura de 5°C. Decorrida as 24 horas, as placas contendo os *chips* congeladas tiveram seu papel filme perfurado e, então, foram levadas ao liofilizador (Liotop®, L101) previamente esterilizado, onde permaneceram por 72 horas a uma temperatura de -59°C.

Por fim, os *chips* secos foram retirados das placas, pulverizadas e armazenadas em fracos com vedação previamente limpos, para evitar contaminação e contato com a umidade.

2.9.3 – Produção da Cerveja Controle

Inicialmente, 250 g de malte pilsen foi moído em moinho específico devidamente calibrado para ser capaz de moer os grãos sem pulveriza-los (Figura 4).

Na panela de brassagem, foi colocado 1 litro de água e aquecido até atingir a temperatura de 40°C. Mantendo esta temperatura, os 250 g de malte pilsen foram

direcionadas à panela de brassagem dando início ao processo denominado como brassagem.

Figura 4 - Malte pilsen moído.



O conteúdo da panela foi submetido à rampa de brassagem, onde permaneceu 30 minutos a 40°C, 30 minutos a 55°C, 60 minutos a 64°C, 15 minutos a 72°C e 10 minutos a 78°C.

Em seguida, o conteúdo provindo da brassagem é filtrado em filtro de pano e filtro funil. O conteúdo parcialmente filtrado foi armazenado em erlenmeyer e encaminhado para o segundo passo da filtragem. Já o bagaço de malte cervejeiro foi descartado. Na segunda etapa do processo de filtragem, o conteúdo em erlenmeyer foi submetido a centrifugação (Heraeus®, cryofuge 6000i) a 4.000 rpm, por 15 minutos a uma temperatura de 20°C e aceleração 9. Ao final da centrifugação, o mosto jovem foi cuidadosamente coletado e encaminha ao processo seguinte.

No processo de fervura, o mosto jovem é adicionado na panela do kit cervejeiro e submetido a aquecimento até atingir a fervura (100°C). Neste momento, 1,5g de lúpulo saaz a.a. 7,8% são adicionados ao mosto jovem e misturados com auxílio de uma espátula e submetido a 10 minutos em fervura. Por fim, o mosto jovem foi retirado da fervura e submetido novamente ao processo de filtragem em filtros de pano e funil e a centrifugação. O conteúdo resultando desta etapa teve seu

volume corrigido para 1 litro com auxílio de uma bureta e com água filtrada, dando origem ao mosto.

Por fim, o mosto foi submetido ao processo onde foi acondicionado em tanque fermentativo em refrigeração a 10°C e teve a adição de 7,5 mL de levedura. Todo o conteúdo permaneceu em processo fermentativo em refrigeração pelo período de 2-4 semanas.

O conteúdo final (cerveja) foi retirado após o término da fermentação e novamente filtrado e submetido à centrifugação para livrar o conteúdo de particulados. Por fim, foi armazenado em garrafa de vidro âmbar sob refrigeração.

2.9.4 – Produção da cerveja com adição de batata yacón na etapa de brassagem

O preparo desta cerveja segue o processo de produção apresentado no item 2.9.3, com algumas alterações.

Junto aos 250 g de malte pilsen foram adicionados 25 g de batata yacón (pulverizada ou em flocos). Este conteúdo passou pela rampa de brassagem de 30 minutos a 40°C e 30 minutos a 55°C. Posteriormente, passou pelo primeiro processo de filtragem, seguido pela fervura, que não ultrapassou a temperatura de 60°C. Os demais processos foram os mesmos executados no item 2.9.3.

2.9.5 – Produção da cerveja com adição de batata yacón na etapa de pós-fervura

O preparo desta cerveja segue o processo de produção apresentado no item 2.9.3 sem alterações até a finalização do processo de fervura.

Após as etapas anteriormente citadas, o mosto provindo da fervura (sem correção volumétrica e centrifugação) foi encaminhado ao béquer de 2 L onde foi agitado e aquecido até a temperatura de 50°C. Ao atingir a temperatura, 25 g de batata yacón foram adicionadas ao mosto e mantidas sob agitação por 1 hora. Ao final deste processo, toda a mistura passou pelo processo de filtração em filtro de pano e funil e foram submetidos à centrifugação. Os processos de correção volumétrica, adição de levedura, fermentação e filtração final se mantiveram conforme o item 2.9.3.

2.9.6 – Modelos de cervejas finais

Para maior compreensão da produção de cervejas com a adição de batata yacón com o propósito de aplica-la à indústria, testou-se 4 cervejas, sendo 1 controle seguindo a metodologia do item 2.9.3, e outras 3 desenvolvidas com a adição da batata adição de batata yacón na etapa de pós-fervura.

Com o propósito de se avaliar o comportamento das cervejas em relação ao tempo de armazenamento e/ou o tempo entre o processamento das batatas e seu armazenamento até a sua utilização, desenvolveu-se 3 cervejas: NN, NV/VN e VV (Figura 5).

A cerveja NN representa a cerveja que foi feita com batata recém processada, liofilizada, pulverizada e utilizada na etapa de pós fervura. A cerveja VV representa a cerveja que foi produzida com batata recém processada, liofilizada, pulverizada e utilizada na etapa de pós fervura, mas que ao final do processo fermentativo foi armazenada por 3 meses. Já a cerveja VN/NV representa a cerveja que foi produzida com batata processada, liofilizada, pulverizada e armazenada por 3 meses e então foi utilizada sendo introduzida na cerveja na etapa de pós fervura.

Figura 5 - Amostras de cervejas (Esquerda para a direita: NN, NV/VN e VV).



2.10 – Preparação das amostras de cervejas para análises

As diferentes amostras de cervejas (controle, NN, NV e VV) passaram inicialmente pelo rotaevaporador, sendo submetidos a uma temperatura de 55°C (NN, NV e VV) e 80°C (Controle) para a retirada do álcool.

Após esta etapa, todas as amostras foram acondicionadas em placas de metal e envoltas por papel filme e levadas ao congelador por um período de 24

horas a temperatura de 5°C. Decorrida as 24 horas, as placas contendo as diferentes amostras de cervejas congeladas tiveram seu papel filme perfurado e então foram levadas ao liofilizador (Liotop®, L101) previamente esterilizado, onde permaneceram por 24 horas a vácuo e a uma temperatura de -59°C.

Após o final da liofilização, cada amostra foi cuidadosamente retirada de sua placa de metal e armazenadas em pequenos frascos âmbar sob refrigeração (Figura 6).

Para as análises de Teste de MRE - Mobilidade Relativa em Eletroforese (2.8), cada amostra foi diluída na proporção de 1:1 (g:v), utilizando-se de água destilada. Para os testes de CCD as amostras foram dissolvidas na proporção de 2 mg/mL de metanol.

Figura 6 - Cerveja VN/NV após o processo de liofilização, apresentando memória geométrica das fibras da batata yacón.



2.11 – Avaliação do perfil cromatográfico dos extratos (CCD)

Foram realizadas cromatografias em camada delgada (CCD) para separação e identificação dos compostos presentes nas diferentes amostras de cervejas CC, NN, NV/VN e VV. Para análise por CCD foi realizada uma otimização de metodologias descritas por Wagner e Bladt (1996), sendo preparadas amostras de

2mg/mL das cervejas liofilizadas diluídas em metanol, a partir dos quais foram aplicadas com capilares 20µl das amostras em cromatoplasmas de sílica gel em alumínio F250 (10cm x 10cm - MERCK).

Como fase móvel para detecção dos compostos flavonoídicos foi utilizado o sistema eluente clorofórmio-metanol-água (75:23:2) e como padrões quercetina, rutina, ácido cafeico e ácido gálico. A revelação das placas foi realizada por nebulização com o revelador (Difenilbornato 1% e Polietilenoglicol 1%). Sendo que as diferentes cromatografias foram analisadas na luz ultravioleta (254 e 366nm) e, após a definição das zonas cromatográficas, foram calculados seus respectivos fatores de retenção através do software ImageJ®.

2.12 – Teste sensorial olfativo

Para a realização do teste utilizou-se todas as amostras exceto a controle. O teste contou com a participação de 33 indivíduos selecionados ao acaso. Os mesmos assinaram o termo de consentimento sobre o teste e permitiram o uso dos dados colhidos na pesquisa apenas para fins acadêmicos. Nas fichas de participação, constava o seguinte termo: *“Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa de aceitação de um produto (CERVEJA), caso você aceite participar desta pesquisa, saiba que seu nome não será divulgado, apenas sua opinião fará parte de um banco de dados que será utilizado para fins acadêmicos. Você não terá nenhuma despesa com essa pesquisa, assim como não será exposto a nenhum risco biológico. Ademais, você não receberá nenhum provento financeiro por participar desta pesquisa.”*. O modelo de ficha está exposto na Figura 7. Ao finalizar a avaliação, cada um dos indivíduos participantes teve que associar o cheiro das cervejas NN e NV, armazenadas em recipientes distintos das amostras utilizadas no início do teste, para se determinar a interferência do tipo de recipiente no olfato. Para análise dos dados, utilizou-se o software estatístico BioEstat® 5.0.

Figura 7 - Ficha do teste sensorial olfativo.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas - Câmpus de Araraquara

Entrevistado: _____ Data: _____ Idade: ____ Sexo: ()M ()F

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa de aceitação de um produto (CERVEJA), caso você aceite participar desta pesquisa, saiba que seu nome não será divulgado, apenas sua opinião fará parte de um banco de dados que será utilizado para fins acadêmicos. Você não terá nenhuma despesa com essa pesquisa, assim como não será exposto a nenhum risco biológico. Ademais, você não receberá nenhum provento financeiro por participar desta pesquisa.

De acordo: _____

1 – Por favor, avalie as amostras servidas e indique o quanto você gostou ou desgostou do cheiro da bebida (cerveja), dando notas de acordo com a escala abaixo. Após a análise olfativa, colocar em ordem os nomes das cervejas que mais gostou e indicar, no verso desta folha, sua opinião sobre o cheiro de cada uma e o que agradou ou não.

	Cerveja (NN)	Cerveja (NV)	Cerveja (VV)
(1) Desgostei Extremamente	()	()	()
(2) Desgostei Muito	_____	_____	_____
(3) Desgostei Moderadamente			
(4) Desgostei Ligeiramente			
(5) Nem gostei, nem desgostei			

(6) Gostei Ligeiramente (7) Gostei Moderadamente (8) Gostei Muito (9) Gostei Extremamente

2.13 – Análise de custo e lucro sobre o produto final

Para realizar os cálculos de predição de custos e/ou lucros sobre o desenvolvimento da cerveja com a batata yacón, utilizou-se do software matemático BeerSmith® 3.0 em sua versão *trial*.

3 – Resultados e Discussão

3.1 – Rendimento no processo de secagem

Os rendimentos foram calculados para o processamento e secagem em estufa (R1) e para o processamento e secagem em Liofilizador (R2), conforme mostra a Tabela 2 abaixo:

Tabela 2 - Rendimento de secagem de batata yacón

Tipo de Secagem	Peso Bruto (kg)	Peso Seco (kg)	Rendimento (%)
Estufa (R1)	2,45	0,194	7,91
Liofilizador (R2)	0,853	0,187	21,92

Conforme demonstrado na Tabela 2, o grupo liofilizado (R2) teve um rendimento maior quando comparado com o grupo seco em estufa de circulação de ar (R1). O grupo R2 se aproxima do estudo de Ojansivu (2011) em que realiza levantamentos na literatura sobre a composição de batatas yacón segundo mais quatros autores: Grau (1997); Manrique (2004); Hermann (1999) e Lachman (2003). Segundo o estudo realizado por Ojansivu, a batata yacón apresenta uma composição de água superior a 70%.

O baixo rendimento apresentado pelo grupo R1 deve-se à perda de material na estufa, uma vez que sua secagem ocorre sobre papel proporcionando a aderência entre os *chips* de batatas yacón com o papel ocasionando perda no momento da coleta final. Ademais, o processo de secagem em estufa não se mostra tão efetivo quanto a liofilização.

3.2 – Sólidos solúveis (Brix)

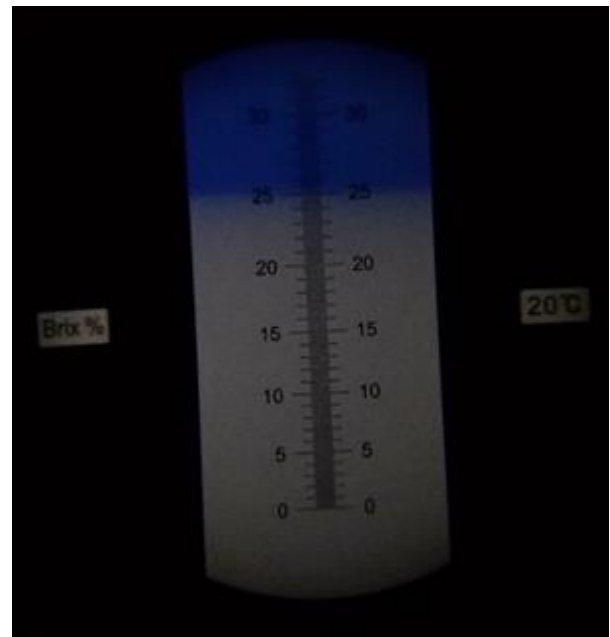
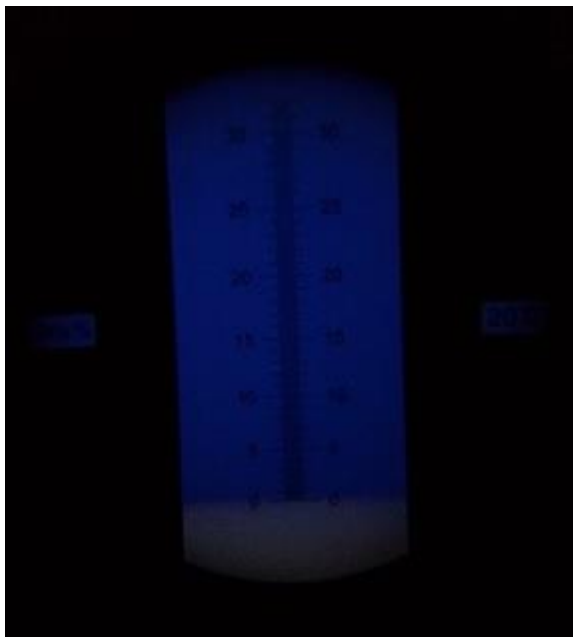
Com a calibração do refratômetro portátil com água destilada, obteve-se um Brix a 20°C de 0. De acordo com a literatura e com a escala de Brix, criada por Adolf F. Brix, a água destilada apresentou uma densidade (d_{20}) de 1 e um índice de refração (n_{D20}) de 1,33 (Figura 8 - esquerda). Já a amostra contendo extrato etanólico 10% apresentou Brix de 25%, que segundo o anexo 1, apresenta

densidade (d_{20}) de 1,10551 e um índice de refração (n_{D20}) de 1,3723 (Figura 8 - direita).

O °Brix obtido demonstra que houve 25 g do açúcar sacarose para 100 g de solução. No entanto, a batata yacón seca é rica em fruto-oligossacarídeos (FOS) possuindo cerca de 50-70% de FOS, 15-40% de açúcares simples, tais como sacarose, frutose e glicose e outros nutrientes de baixa concentração exceto potássio (OJANSIVU, *et al.*, 2011). Desta forma, como a mensuração do Brix calcula não apenas a sacarose dissolvido, mas também todos os sólidos secos dissolvidos, deve-se levar em consideração que grande parte destes 25 g de sacarose, na verdade, trata-se de FOS.

Matematicamente, considerando-se que 70% da batata yacón seca é FOS, 20% açúcares simples e 10% outros nutrientes, temos que destes 25 g de sacarose calculados pelo refratômetro, 17,5 g são FOS, 5 g são açúcares simples e 1,5 são outros sólidos secos (OJANSIVU, *et al.*, 2011; GRAEFE, *et al.*, 2004; HERMANN, *et al.*, 1999; MANRIQUE, *et al.*, 2004 e 2005)

Figura 8 - (Esquerda): Leitura refratômetro água destilada (valor de calibragem esperado para a água destilada de 0% de brix). (Direita): Leitura refratômetro extrato 10% (valor igual a 25% de brix).



3.3 – Determinação da atividade antioxidante (DPPH)

Após a leitura das amostras em espectrofotômetro, calculou-se o Ec50 das diferentes concentrações do extrato etanólico 10% por meio de sua representação gráfica linear, como representado na Tabela 3 abaixo:

Tabela 3 - Atividade Antioxidante de extrato de batata yacón em diferentes concentrações

Concentração (%)	Atividade antioxidante (A.A %)*	Desvio padrão
0,01	4,87a	±2,77
1	ND	ND
25	31,5b	±1,18
50	67,4c	±3,70
100	88,2d	±1,36

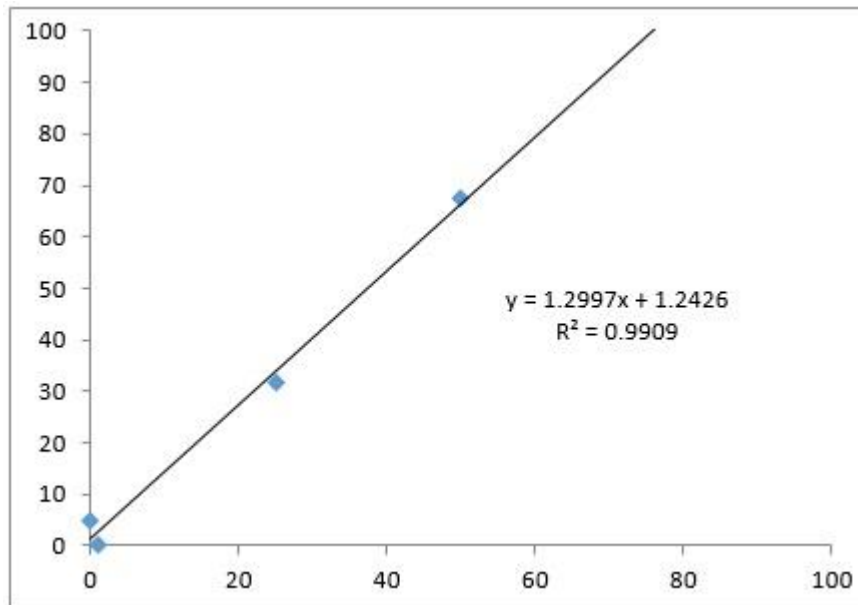
* Teste estatístico realizado através da análise ANOVA (one way) – Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos

Com os dados obtidos, foi possível desenvolver a representação gráfica (Figura 9) da Tabela 3, onde obteve-se a equação da reta e, por meio desta, descobriu-se o Ec50 da batata yacón.

Assim, através dos dados obtidos, a concentração necessária para se atingir atividade antioxidante de 50 % (Ec50) é de 37,51%.

Quando comparado com a literatura, não se obteve dados do Ec50 da batata yacón especificamente, porém, é confirmado seu elevado potencial antioxidante e que esta atividade está diretamente ligada à forma de secagem e estocagem da batata seca. De acordo com Maydata (2002) e Gusso (2015), tanto a batata quanto as folhas da yacón são ricas em compostos fenólicos e estes, por sua vez, possuem como propriedades gerais serem antioxidantes, justificando assim o Ec50 apresentado como 37,51%.

Figura 9 - Representação gráfica e equação da reta da atividade antioxidante apresentada pelo extrato de batata yacón diluído em diferentes concentrações.



3.4 - Determinação do poder de redução férrica (FRAP)

Após a leitura das amostras em espectrofotômetro, a concentração equivalente a Trolox ($\mu\text{M/L}$) dos extratos através de sua representação gráfica linear, como representado na Tabela 4 abaixo:

Tabela 4 - Capacidade de redução férrica de extrato de batata yacón em diferentes concentrações

Concentração (%)	Concentração equivalente a Trolox ($\mu\text{M/L}$)*	Desvio padrão
0,01	-34,515a	$\pm 0,52$
1	-16,333a	$\pm 2,62$
25	318,818b	$\pm 8,33$
50	584,273c	$\pm 13,45$
100	879,121d	$\pm 5,48$

*Teste estatístico realizado através da análise ANOVA (one way) – Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos

Desta forma, o ensaio antioxidante de determinação do poder de redução do íon ferro (FRAP) que mais obteve sucesso em sua atividade antioxidante foi o extrato de maior concentração (100%) produzindo íons de ferro II (Fe^{2+}) a partir da redução de íons férricos III (Fe^{3+}).

De acordo com o experimento, a batata yacón demonstrou maior potencialidade na sua concentração de 100% (0,01g/mL) equivalente Trolox de 879,12 $\mu\text{M/L}$.

Khajehei (2018) realizou estudos para avaliar a potencialidade de diferentes partes da batata yacón como a parte carnosa, a pele e a batata com ambas partes. Também realizou estudo em que busca analisar a potencial redutor férrico da batata yacón entre suas variações (brancas e vermelhas). Por fim, para ambos casos, a batata apresentou elevado potencial redutor férrico (antioxidante) e essa potencialidade é diretamente afetada pela forma com que a *chips* são secas, pois a temperatura influência diretamente na degradação dos compostos antioxidantes presentes na batata.

3.5 – Dosagem do teor de fenóis totais

Após a leitura das amostras em espectrofotômetro, a concentração equivalente a ácido gálico (mg/mL) dos extratos através de sua representação gráfica linear, como representado na Tabela 5 abaixo:

Tabela 5 - Dosagem do teor de fenóis totais presentes em cada concentração de extrato de batata yacón

Concentração (%)	Concentração equivalente a ácido gálico (mg/mL)*	Desvio padrão
0,01	28,926a	$\pm 1,70$
1	30,778a	$\pm 1,11$
25	67,074b	$\pm 2,80$
50	125,593c	$\pm 6,79$
100	226,704d	$\pm 22,83$

* Teste estatístico realizado através da análise ANOVA (one way) – Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos

Dentre as amostras analisadas, a que apresentou maior dosagem de fenóis totais foi a concentração de 100%, equivalente a 0,01 (g/mL). Quando analisado a partir da equação da reta, obteve-se um valor equivalente a ácido gálico de 226,7 (mg/mL).

Contudo, como o extrato 100% ainda não alcançou o *plateau*, indicando possível potencialidade em maiores concentrações. Segundo Maydata (2002), Gusso (2015) e Khajehei (2018), a batata yacón, tanto as suas folhas como o tubérculo, é uma rica fonte de frutanos e compostos fenólicos, tendo como seus principais representantes ácido cafeico e seu derivado (ácido clorogênico), sendo que as raízes apresentam cerca de 200 mg de compostos fenólicos a cada 100 g de matéria seca comestível.

3.6 – Dosagem de flavonóides totais

Após a leitura das amostras em espectrofotômetro, a concentração equivalente a rutina (mg/mL) dos extratos através de sua representação gráfica linear, como representado na Tabela 6 abaixo:

Tabela 6 - Dosagem de flavonoides totais presentes em cada concentração de extrato de batata yacón

Concentração (%)	Concentração equivalente a rutina (mg/mL)*	Desvio padrão
0,01	ND	ND
1	12,20a	±2,00
25	68,87b	±1,53
50	192,2c	±4,36
100	440,2d	±18,73

* Teste estatístico realizado através da análise ANOVA (one way) – Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos

Através dos dados, a concentração de 100% (0,01g/mL) apresentou maior teor de flavonoides equivalente a 440,2 mg de rutina por mL de extrato. Assim, como explicado previamente no item 3.5, a batata yacón é reconhecida por possuir

diversos composto fenólicos e um dos seus principais representantes na classe dos flavonóides é a quercetina (GUSSO, A.P. *et al.*, 2015; SIMONOVSKA, B. *et al.*, 2003).

3.7 - Análise de MRE (mobilidade relativa em eletroforese)

Após as amostras percorrerem o gel de empacotamento e de corrida, obteve-se o gel de eletroforese representado na Figura 10 abaixo:

Figura 10 - Gel de corrida em duplicata (da esquerda para a direita: controle, controle positivo, controle negativo e amostra).

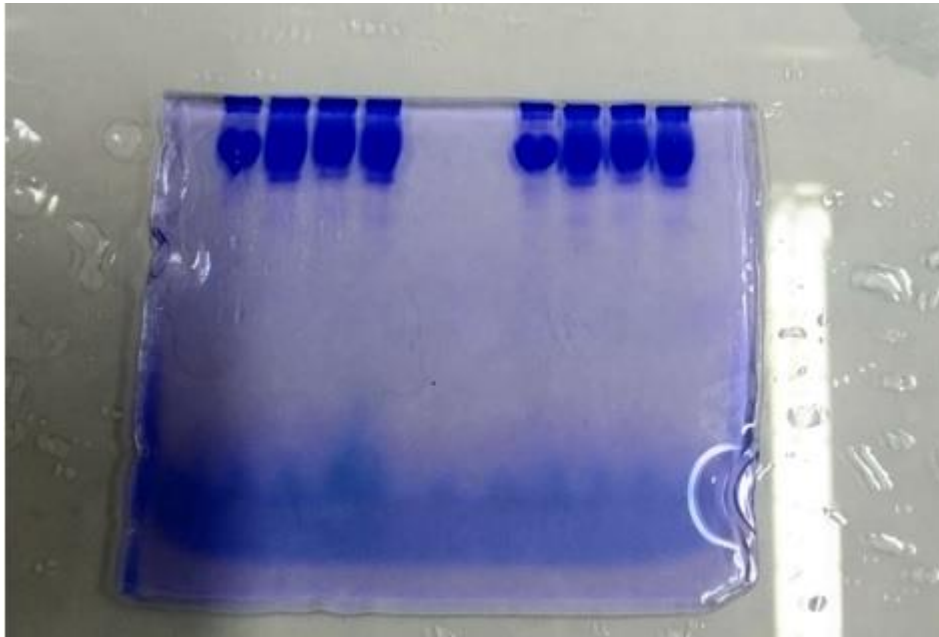
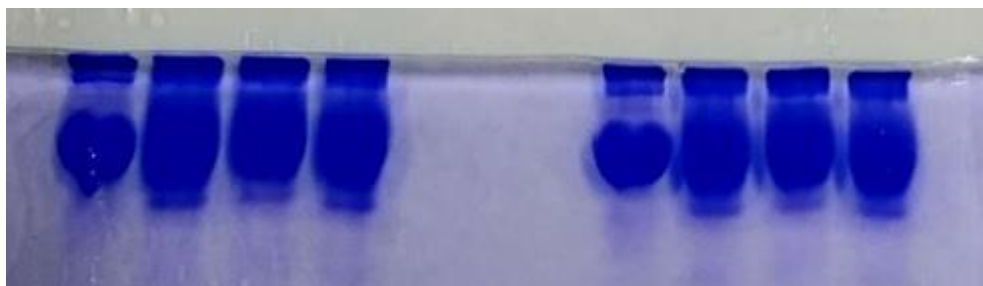


Figura 11 - Gel de corrida em duplicata (da esquerda para a direita: controle, controle positivo, controle negativo e amostra) - amplificado.



Os géis demonstram que o controle positivo obteve glicação, no entanto, o controle negativo (contendo AMD) e a amostra não demonstraram glicação. A partir desta análise pode-se afirmar que o extrato etanólico 10% possuía compostos

fenólicos suficientes para impedir a glicação, assim como pode-se afirmar que não houve polimerização dos FOS pela atuação da enzima frutanos hidrolase (FH) que converte os FOS em sacarose, frutose e glicose.

Yamaguchi (2018) demonstra que seus testes realizados tanto com a casca da batata yacón quanto com a parte comestível da mesma apresentam forte atividade antiglicante indicando que seus polifenóis possuem elevada atividade antiglicante e ratificando os dados obtidos por este teste.

Conforme Khajehei (2018), o teor de compostos fenólicos presentes no alimento pode ser influenciado por diversos fatores, tais como cultivo, origem geográfica, fatores ambientais durante o cultivo, tempo de colheita do alimento e, principalmente, tempo entre colheita e utilização do alimento.

Desta forma, para se manter os resultados obtidos para a produção das cervejas, o tempo entre processamento da batata e sua utilização deve ser o mais curto possível.

3.8 – Desenvolvimento das cervejas

Como demonstrado nos materiais e métodos, as principais análises que seriam feitas dentro do estudo se atentaria ao momento de adição da batata yacón dentro do processo da cerveja, a conformação da batata liofilizada (pulverizada ou em flocos) e o tempo de armazenamento.

3.8.1 – Conformação da batata yacón liofilizada

Foram desenvolvidas diferentes amostras de cervejas utilizando-se batata yacón pulverizada ou em flocos. Ao decorrer do desenvolvimento das cervejas, observou-se que as batatas pulverizadas foram melhor aproveitadas dentro dos processos. Isso pode ser explicado quimicamente quanto à teoria da cinética química, que diz que quanto maior a superfície de contato, maior é o número de moléculas reagindo, maior o número de colisões efetivas, portanto aumenta a velocidade de reação. Assim, as batatas pulverizadas facilitavam a interação das mesmas e a sua mistura junto ao mosto.

3.8.2 – Adição da batata yacón no início do processo

Ao decorrer do desenvolvimento das cervejas, percebeu-se que a adição da batata yacón no início do processo da brassagem não desenvolvia todos os processos da cerveja de forma efetiva e sensorialmente agradável. Ao limitar a rampa de brassagem, o sabor do malte foi comprometido após o processo, assim como a fervura em temperatura reduzida traz alguns riscos à cerveja, uma vez que não se alcança a temperatura de fervura, portanto, não esteriliza o mosto para a inoculação, assim como também compromete a incorporação do sabor do lúpulo.

3.8.3 – Adição da Batata no final do processo

Foi o método que mais se adaptou às necessidades do estudo. Adicionar a batata após o processo de fervura diminui os riscos de perda de compostos de interesse provindos da batata por degradação devido á temperaturas elevadas da brassagem e da fervura, assim como não traz os riscos ao comprometer a esterilização do meio para a adição do inóculo e não ocasiona alteração do sabor de forma tão acentuada.

3.9 – Análise de MRE (mobilidade relativa em eletroforese) das amostras de cervejas

Após as amostras percorrerem o gel de empacotamento e de corrida, obteve-se o gel de eletroforese apresentado na Figura 12.

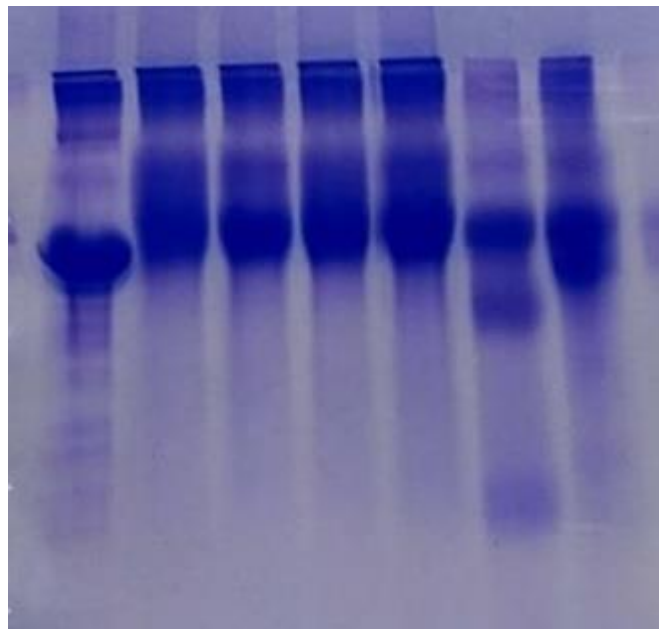
A partir do resultado apresentado, conclui-se que apenas a amostra NV/VN apresentou glicação. Isso pode ser justificado por Gusso (2015) que diz que as batatas e suas estruturas de FOS sofrem o fenômeno de despolimerização quando armazenadas por muito tempo. Este processo de mudança na composição química ocorre devido a enzima frutano hidrolase (FH) a qual é responsável por converter as estruturas FOS em glicose, frutose e sacarose. A presença destes açúcares, principalmente a sacarose, desempenham um papel significativo para que ocorra a glicação no experimento.

Valendo-se da discussão anterior, o experimento demonstra que as demais cervejas que possuem batata yacón em sua composição (NN e VV) não sofreram o

fenômeno da despolimerização. Isso também é justificado por Gusso (2015) que diz que, mesmo quando armazenadas, as batatas yacón passam pelo fenômeno e que temperaturas baixas de armazenamento ajudam a desacelerar o processo, mas não em neutralizá-lo. Ou seja, a cerveja VN/NV foi a única que se utilizou batata liofilizada e pulverizada armazenada há, no mínimo, 3 meses sob refrigeração. Enquanto as demais cervejas foram processadas com batata yacón recém colhida, processada, liofilizada e pulverizada.

Desta forma, através deste experimento pode-se inferir que os melhores modelos de produção de cerveja com batata yacón, visando preservar a sua funcionalidade dos seus compostos FOS, são aqueles desenvolvidos com a adição da batata na etapa de pós-fervura e que seja nova, ou seja, recém colhida, processada, liofilizada e pulverizada.

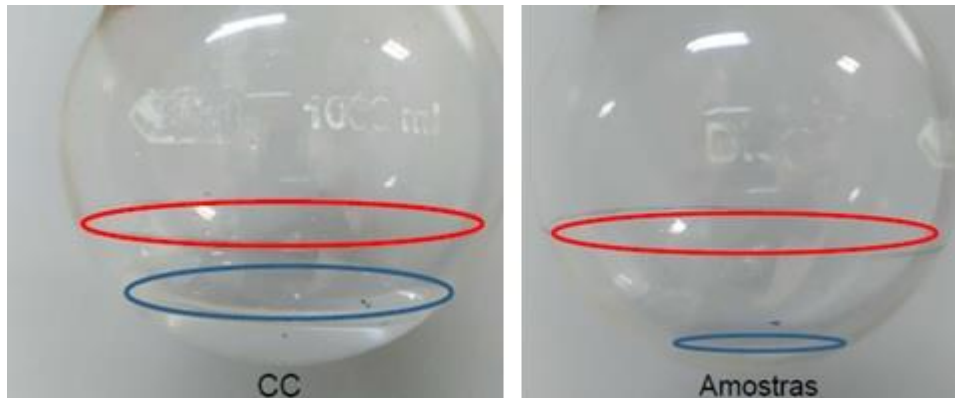
Figura 12 - Eletroforese de diferentes amostras de cervejas (da esquerda para direita: controle (BSA+tampão), controle positivo, controle negativo, cerveja controle, NN, NV/VN e VV.).



Já a amostra da cerveja controle (CC) não apresentou glicação. Os açúcares da cerveja, em sua grande maioria, foram utilizados na fermentação, apresentando diminuição no °Brix, indicando menor quantidade de sólidos solúveis, como a sacarose, e um aumento no volume de álcool, verificado e comprovado através do processo de rotaevaporação da cerveja controle quando comparada com as demais amostras, conforme demonstra a Figura 13. Ademais, o lúpulo presente na cerveja,

conjuntamente com o malte, apresenta compostos capazes de promover atividade antiglicante, justificando assim sua atividade antiglicante.

Figura 13 - Álcool retirados das diferentes amostras de cervejas após o processo de rotaevaporação - linhas azuis indicam o nível do álcool, linhas vermelhas indicam o volume inicial de cerveja exposta ao processo de rotaevaporação.



Por fim, as amostras NN e VV não apresentaram glicação, indicando que as mesmas mantiveram seus índices iniciais de FOS. Através destes dados apresentados, é possível confirmar a funcionalidade presente nas cervejas com batata yacón NN e VV, assim como ratificar o que Gusso (2015) apresenta que as estruturas de FOS são polimerizados com o passar do tempo quando a batata é estocada na sua forma pulverizada. Por fim, chega-se à conclusão que o melhor processamento da cerveja é aquele em que a batata yacón é processada, liofilizada, pulverizada e imediatamente utilizada no processo de produção da cerveja, sendo adicionada na etapa de pós-fervura.

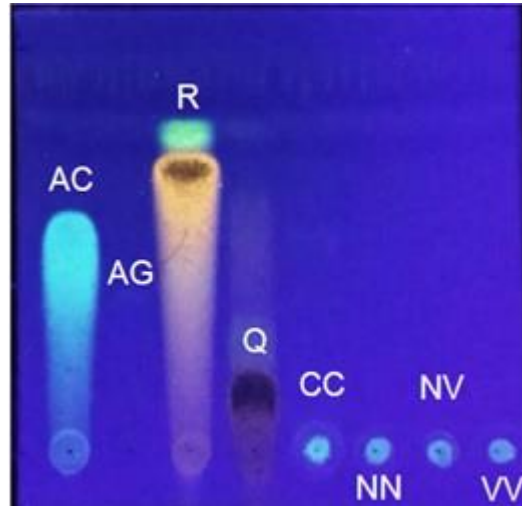
3.10 – Avaliação do perfil cromatográfico dos extratos (CCD)

Verifica-se na Figura 14 o cromatograma em CCD revelada com o reagente revelador (difenilbornato 1% e polietilenoglicol 1%) submetida à luz ultravioleta.

O cromatograma demonstra que as amostras de cervejas (CC, NN, VN/NV e VV) não apresentam os compostos padrões utilizados (ácido cafeico, ácido gálico, rutina e quercetina), portanto, os cálculos dos fatores de correção não foram realizados.

No entanto, o experimento demonstra que as cervejas possuem compostos flavonólicos, uma vez que apresentaram fluorescência após serem revelados e submetidos a luz UV.

Figura 14 - Cromatograma em CCD revelada e submetida à luz ultravioleta.



3.11 – Resultado da pesquisa sensorial

Os dados coletados foram inseridos dentro dos softwares Bioestat® 5.0 e Microsoft Excel®. A partir deles obteve-se:

Tabela 7 - Análise Estatística Descritiva da distribuição do Sexo

Sexo	Feminino	Masculino
Nº de Indivíduos	18	15
%	54,55	45,45

Tabela 8 - Análise Estatística Descritiva das notas apresentadas.

Amostra	Média	Desvio Padrão
NN	5,97 ^a	±1,92
NV	6,03 ^a	±1,64
VV	6,15 ^a	±1,92

*Teste estatístico realizado através da análise ANOVA (one way) – Tukey ($p < 0,05$). Letras iguais indicam ausência de diferença significativa entre os grupos

Tabela 9 - Número de acertos na comparação entre as amostras em diferentes recipientes.

Acertos	Nº. Observados	%
0 Acerto	20	60,60
1 Acerto	8	24,24
2 Acertos	5	15,16

Através dos dados apresentados pela Tabela 8, tem-se que não há diferença estatística significativa entre as notas das diferentes amostras de cervejas quando analisadas quantitativamente, no entanto, as notas foram atribuídas de acordo com constantes previamente apresentadas, conforme o descrito no item 2.11. Desta forma, se analisada de forma qualitativa, através da moda (Mo) dos dados apresentados, tem-se que a cerveja NN obteve nota 5, a cerveja NV obteve nota 7 e a cerveja VV obteve nota 8. Indicando assim predileção pela cervo VV.

Conjuntamente, a Tabela 9 demonstra a interferência dos recipientes onde as amostras de cervejas foram armazenadas no odor da cerveja. Mais de 60% dos participantes não foram capazes de associar o odor das cervejas NN e NV armazenadas em envazes distintos de forma correta com os envazes do teste sensorial.

3.12 – Análise de custo e lucro sobre o produto final

Para a análise dos custos e preço de venda da cerveja com batata yacón, utilizou-se do software de cálculo e predição BeerSmith® 3.0, versão *trial*. Para a realização dos cálculos, utilizou-se da preparação da cerveja na pequena escala industrial de 20L finais com correção. O software foi capaz de calcular o erro de produção do volume do lote (18,93L) a partir do modelo de cerveja *German Pils* utilizando-se de 56g de lúpulo saaz (3,75%), 4,25kg de malte pilsen belga, 2 pkg de inóculo SafAle inglês e 472,9 g de batata yacón como adjunto no processo de pós-fervura.

Ademais, o programa foi simulado dentro dos padrões de produção utilizados durante a pesquisa, respeitando os tempos devidos de cada etapa do processo de produção, assim como as temperaturas da rampa de brassagem. Além disso, a

energia elétrica/gás e a água utilizada no processo também foi adicionada como custo de processamento para uma aproximação mais real com o preço de mercado.

Por fim, o programa demonstrou que, para a produção da cerveja, gastaria-se cerca de R\$5,008 para cada litro produzido.

Figura 15 - Software BeerSmith® 3.0, versão trial, utilizado para predição dos valores de custo e venda da cerveja produzida com batata yacón.

The screenshot displays the BeerSmith 3.0 software interface for configuring a beer recipe. The main window is titled 'Cerveja C/ BatYac' and shows the following details:

- Nome:** Cerveja C/ BatYac
- Tipo de Receita:** Tudo Grão
- Tempo de Fervura:** 60 min
- Data:** 30/01/2020
- Cervejeiro:** (empty)
- Volume do Lote:** 18.93 L
- Volume Pré-Fervura:** 24.72 L
- Versão:** 1.0
- Equipamento:** All Grain - Standard 5 Gal/19l Bat
- Eficiência Total:** 72.00 %
- Eficiência da Mostura:** 82.8 %
- Bloquear Receita:** (checkbox)

The main table lists the ingredients:

Qty	Nome	Tipo	#	%/IBU	Volume	Estoque	Custo
56.00 g	Saaz (3.75 %) - Fervura 60.0 min	Lúpulo	2	25.9 IBUs	-	0.00 g	R\$ 11.20
2.0 pkg	SetAle English Ale (DCL/Fermentis #5-04) [23.66 ml]	Levedura	4	-	-	0.0 pkg	R\$ 36.00
4.25 kg	Pilsner (2 Row) Bel (3.9 EBC)	Grão	1	100.0 %	2.77 L	0.00 kg	R\$ 34.00
472.90 g	BatYac (Fervura)	Outro	3	-	-	0.00 g	R\$ 12.91

Below the table, there is a 'Comparação com o Guia de Estilos' section for 'German Pils'. It shows predicted values compared to a style range:

- GO Prevista:** 1.049 SG (Range: 1.044-1.050 SG)
- Amargor Previsto:** 25.9 IBUs (Range: 22.0-40.0 IBUs)
- Cor Prevista:** 6.6 EBC (Range: 3.9-9.8 EBC)

Summary statistics at the bottom right:

- Total de Grãos:** 4.25 kg
- Total de Lúpulos:** 56.00 g
- Taxa de Amargor:** 0.529 IBU/SG
- Gravidade Pré-Fervura:** 1.043 SG
- GO Apurada:** 1.046 SG
- Volume de Lote Apurado:** 18.93 L
- Eficiência Apurada:** 67.5 %
- Custo Total:** 94.11 R\$

4 - Conclusão

Ao longo do presente estudo, analisou-se o potencial pré-biótico da batata yacón através de testes antioxidantes, antiglicante, assim como seu Brix e seu rendimento. As análises foram realizadas com extratos etanólico 10% de batata yacón diluídos na seguinte proporção: 100% (0,1 g/mL), 50% (0,05 g/mL), 25% (0,025 g/mL), 1% (0,001 g/mL) e 0,01% (10 µg/mL).

Com relação ao rendimento a liofilização apresentou maior rendimento, evitando desperdício do produto. Com relação aos testes, o extrato com concentração de 100% obteve os melhores índices, portanto, tornou-se um parâmetro para o desenvolvimento da primeira cerveja que terá como base porcentagem de 10% de matéria seca de batata yacón e 90% de produto fermentável. Esta proporção busca trazer os mesmos parâmetros encontrados na solução de extrato 100 % analisada durante os diferentes testes e processamentos.

Baseados nas conclusões anteriores, foram desenvolvidas diferentes amostras de cervejas que tiveram alterações na conformação da batata yacón liofilizada utilizada, no tempo de processamento e armazenamento da batata yacón, no tempo de armazenamento da cerveja após processamento, maturação da cerveja, adição da batata em diferentes momentos do processo e diferentes recipientes de armazenamento. Concluindo assim, que a melhor cerveja no conceito sensorial e na forma de processamento é aquela que se utilizou de batatas yacón liofilizadas na forma pulverizadas, adicionada na etapa de pós fervura para preservação do frutanos, como FOS e inulina e compostos fenólicos. Na perspectiva sensorial olfativa, a cerveja com maior tempo de armazenamento e maturação foi a melhor avaliada. Quando armazenadas, as cervejas devem permanecer em recipientes âmbar e vedados e sobre refrigeração.

Quanto a funcionalidade, foi comprovado através do teste de eletroforese das cervejas que parte dos FOS permaneceram nas cervejas NN e VV. Indicando, assim, que a melhor metodologia de sua produção é com a utilização rápida na mesma no processo de produção de cerveja para preservação de sua capacidade funcional como alimento.

Testes futuros, como HPLC, serão realizados para ratificar, de forma mais clara, a presença dos compostos FOS nas amostras de cervejas, assim como a possível existência de l-triptofano e ácido clorogênico.

5 - Referências

ANGELIS, R. C. Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde. Fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades Degenerativas. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 295.

ANGERHOFER, C. K.; MAES, D.; GIACOMONI, P. U. The use of natural compounds and botanicals in the development of anti-aging skin care products. In: DAYAN, N. (Ed.). Skin Aging Handbook: an integrated Approach to Biochemistry and Product Development. Norwich, N.Y.: William Andrew, 2008. Cap. 10, p. 205 – 263.

ALBUQUERQUE, E. N.; ROLIM, P. M. Potencialidades do yacon (*Smallanthus sonchifolia*) no diabetes Mellitus. *Ciência Médica*, v. 20, n. 3-4, p. 99-108, 2011.

AVISITE. ABIA: Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos. Disponível em:

< <https://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2017.pdf>>. Acesso em: 25 de Jan. 2019.

AVISITE. BNDES: Setor de Bebidas no Brasil. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/3462/1/BS%2040%20O%20setor%20de%20bebidas%20no%20Brasil_P.pdf .Acesso em: 26 de Jan. 2019.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Food Science & Technology*, v. 31, p. 118-129, 2013.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

DELGADO, G. T. C.; TAMASHIRO, W. D. M S. C.; JUNIOR, M. R. M., PASTORE, G. M. Yacon (*Smallanthus sonchifolius*): A Functional Foods. *Plants Foods Human Nutrition*, v. 68, p. 222-228, 2013.

GAMARANO, L.; FRAIGE FILHO, F. Alimentos Funcionais no tratamento do Diabetes Mell itus. *Qualidade em Alimentação Nutrição*. São Paulo, Ponto Crítico, n. 19, p. 20-21, jun./set. 2004. ISSN 1519-7719.

GIANEZINI, M.; DE FAVERI, M. Q.; WESTRUP, M. P.; WATANABE, M. An Overview on the Production and Quality of Craft Beer in Brazil: Strategic Planning, Perspectives and Market Trends. *International Multilingual Journal of Contemporary Research*, v. 6, n. 2, p. 1-10, 2018.

GOLDIN, A.; BECKMAN, J. A.; SCHMIDT, A. M., CREAGER M. A. Advanced glycation end products. *Circulation*, v. 114, p. 597-605, 2006.

GOMES, G. B. Alimentos funcionais e doença aterosclerótica. *Qualidade em Alimentação Nutrição*. São Paulo, Ponto Crítico, n. 13, p. 16 -17, ago. 2002. ISSN: 1519-7719.

GRAEFE, S.; HERMANN, M.; MANRIQUE, I.; GOLOMBEK, S.; BUERKERT, A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. *Field Crops Research*, v. 86, p. 157-165, 2004.

GRAU, A.; REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolius*: Promoting the conservation and use of underutilized crops (Poepp. and Endl.), H. Robinson]. In: M. HERMANN, M.; HELLER, J. (Editors). *Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon*. Rome, Italy: International Plant Genetic Resources Institute, 1997. p. 199-256. (Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21). ISBN 92-9043-351-5.

GUSSO, A. P., MATTANA, P., RICHARDS, N. Yacon: benefícios à saúde e aplicações tecnológicas. *Ciência Rural*, v. 45, N. 5, p. 912-919, 2015.

HERMANN, M.; FREIRE, I.; PAZOS, C. Compositional diversity of the yacon storage root. In: *Impact on a changing world: Program report 1997-1998*. Lima, Perú: International Potato Center (CIP), 1999. p. 425-432.

JONES, P. J.; JEW, S. Functional food development: concept to reality. *Food Science & Technology*, v. 18, p. 387-390, 2007.

KHAJEHEI, F.; MERKT, N.; CLAUPEIN, W.; GRAEFF-HOENNINGER, S. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Yacon (*Smallanthus Sonchifolius* Poepp. and Endl.) Chips: Effect of Cultivar, Pre-Treatment and Drying. *Agriculture*, v. 8, p. 1-18, 2018.

KHAJEHEI, F.; MERKT, N.; CLAUPEIN, W.; GRAEFF-HOENNINGER, S. Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) as a Novel Source of Health Promoting Compounds: Antioxidant Activity, Phytochemicals and Sugar Content in Flesh, Peel, and Whole Tubers of Seven Cultivars. *Molecules*, v. 23, p. 1-19, 2018.

LACHMAN, J.; FERNANDEZ, E. C.; ORSAK, M. Yacon (*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson) chemical composition and use e a review. *Plant, Soil and Environment*, v. 49, n.6, p. 283-290, 2003.

LAGO, C. C.; BERNSTEIN, A.; BRANDELLI, A.; NOREÑA, C. Z. Characterization of Powered Yacon (*Smallanthus sonchifolia*) Juice and Pulp. *Food Bioprocess Technology*, v. 5, p. 2183-2191, 2012.

LEDESMA-OSUNA, A. I.; RAMOS-CLAMONT, G.; VÁZQUEZ-MORENO, L. Characterization of bovine serum albumin glycated with glucose, galactose and lactose. *Acta Biochim Pol*, v. 55, p. 491-497, 2008.

MANRIQUE, I.; PARRAGA, A.; HERMANN, M. Yacon syrup: Principles and processing. Series: *Conservación y uso de labiodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo*, v. 8B, p. 31, 2004.

MAYDATA, A. G. Café, antioxidantes y protección a la salud. *Medisan*. v. 6, p.72-81, 2002.

- MEDEIROS J. S. Elaboração e caracterização físico-química da farinha de batata Yacón (*Smallanthus Sonchifolius*). Dissertação (Mestrado) - Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte. Currais Novos, RN, p. 19-20, 2015.
- MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, v. 56, p. 181-188, 2003.
- OJANSIVU, I.; FERREIRA, C. L.; SALMINEN, S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Food Science & Technology*, v. 22, p. 40-46, 2011.
- OYAZU, M. Studies on products of browning reactions-antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, v. 44, p. 307–315, 1986.
- PEREIRA, F. E. A. Biodiesel produzido a partir de óleo de sementes de *Mabea fistulifera* Mart. Monografia (Trabalho de conclusão de curso) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *American Journal for Clinical Nutrition*, v. 71, p. 1660S-1664S, 2000.
- ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade Antioxidante de Frutas do Cerrado, *Ciência Tecnologia Alimentos*, v. 27, p. 53-60, 2007.
- SANTANA, I.; CARDOSO, M. H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolia*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. *Ciência Rural*, v. 38, p. 898-905, 2008.
- SIMONOVSKA, B. et al. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *Journal of Chromatography*, v. 1016, p. 89-98, 2003.
- SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPONA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer. *Appetite*, v. 51, p. 456-467, 2008.
- STAGOS, D.; PORTESIS, N.; SPANOU, C. et al. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. *Food and Chemical Toxicology*, v. 50, p. 4115-4124, 2012.
- URALA, N.; LÄHTEENMÄKI, L. Reasons behind consumer's functional food choices. *Nutrition & Food Science*, v. 33, p. 148-153, 2003.
- WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. 2nd. ed. Berlim: Springer Verlag, 1996. p. 384.
- YAMAGUCHI, T.; TAKABE, W.; YAGI, M.; YONEI, Y. Analysis of anti-glycative components in *Smallanthus sonchifolius* (yacon). *Glycative Stress Research*, v. 5, p. 36-44, 2018.

YAO, X.; ZHU, L.; CHEN, Y. et al. In vivo and in vitro antioxidant activity and α -glucosidase, α -amylase inhibitory effects of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds. *Food Chemistry*, v. 139, p. 59-66, 2013.

ZAID M. A.; AFAQ F.; SYED D. N.; MUKHTAR H. Botanical antioxidants for protection against damage from sunlight. *Nutritional Cosmetics: Beauty from Within*, p. 159–183, 2009.

ANEXOS

ANEXO A - Densidade e índice refração a 20°C de acordo com o °BRIX

Technical Reference**Common Refraction Values**

BEVERAGES	
Distilled Water	0% Brix
Acidophilus	12 to 20% Brix
Carbonated	5 to 15% Brix
Concentrated Fruit Juices	41 to 68% Brix
Fruit Juice	12 to 17% Brix
Grapes & Wines	14 to 19% Brix
Lactic Acid	12 to 22% Brix
Milk	6 to 17% Brix
Nectars	16 to 23% Brix
Tomato Juice	4 to 9% Brix

FRUITS	
Distilled Water	0% Brix
Apples	11 to 18% Brix
Grapes	7 to 24% Brix
Oranges & Pears	4 to 13% Brix
Strawberries	6 to 12% Brix
Tomatoes	3 to 6% Brix
Tomato Puree	14 to 17% Brix

FOOD	
Distilled Water	0% Brix
Canned Fruits	14 to 29% Brix
Condensed Milk	52 to 68% Brix
Egg Yolks	45 to 50% Brix
Flour Paste, Jams, Jellies & Marmalade	60 to 70% Brix
Honey	58 to 92% Brix
Liquid Sugar	58 to 80% Brix
Mayonnaise	5 to 10% Brix
Olive Oil & Palm Oil	70 to 75% Brix
Paraffin Oil	55 to 60% Brix
Soybean Milk	4 to 13% Brix
Steak Sauce & Tomato Catsup	28 to 38% Brix
Yeast Culture Solutions	3 to 8% Brix

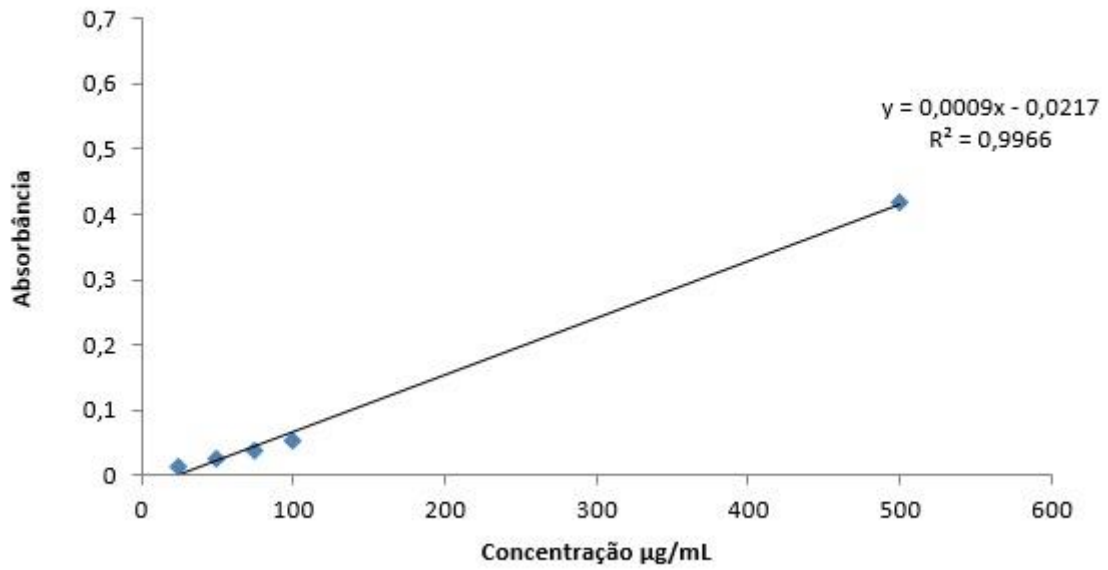
Refractive Index—Brix—Density Conversion Chart

Density ² (20°C)	Brix % (20°C)	Refractive Index ¹ (20°C)
1	0	1.33
1.00965	5	1.34026
1.03998	10	1.34782
1.06104	15	1.35568
1.08287	20	1.36384
1.10551	25	1.37233
1.11898	30	1.38115
1.15331	35	1.39032
1.17853	40	1.39986
1.20467	45	1.40987
1.23174	50	1.42009
1.25976	55	1.43080
1.28873	60	1.44193
1.31866	65	1.45348
1.34956	70	1.46546
1.38141	75	1.47787
1.41421	80	1.49071
1.44794	85	1.50398
1.48259	90	
1.51814	95	
² According to Table 109, NBS Circular 440		¹ According to 16th Session of ICUMSA 1974

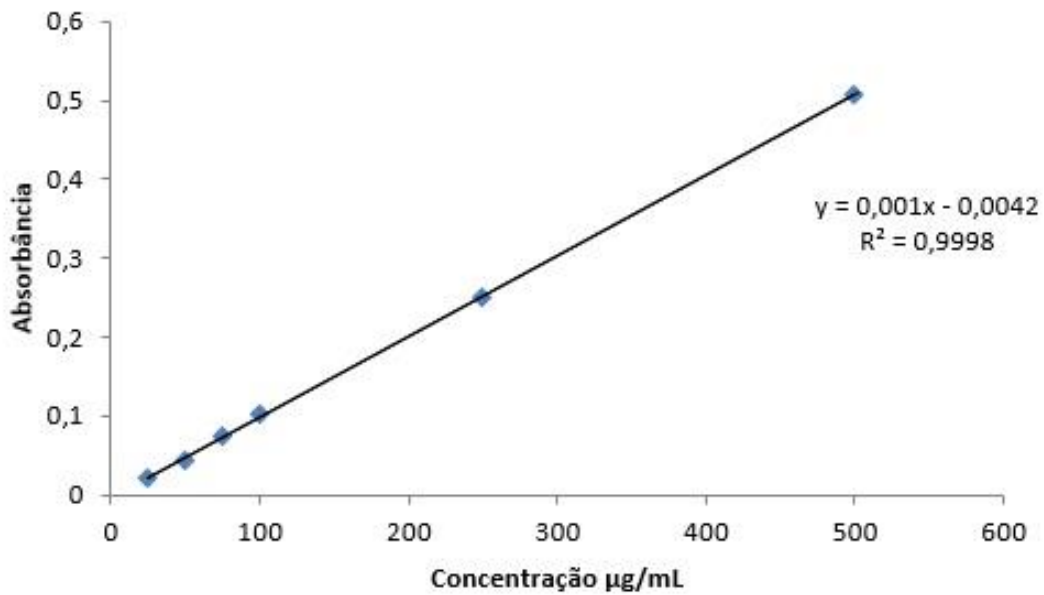
This table shows the conversion between refractive index respective to density and Brix at 20°C. There is a direct relationship between density and Brix. This conversion is based on table 109 of NBS Circular 440. Refractive index and Brix reading are temperature-dependent.

ANEXO B - Curva Padrão Fenóis e Flavonóides (R² confiabilidade e y gera a regressão linear.

Curva padrão Fenóis - Bioespectro



Curva padrão flavonoides - bioespectro



ANEXO C - Curva Padrão teste FRAAP (R^2 confiabilidade e y gera a regressão linear).

