



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Mariana Dâmaris de Oliveira

**Avaliação e aplicação de bagaço de malte e bagaço de
mandioca modificados no processo de clarificação de
cerveja artesanal**

São José do Rio Preto
2022

Mariana Dâmaris de Oliveira

Avaliação e aplicação de bagaço de malte e bagaço de mandioca modificados no processo de clarificação de cerveja artesanal

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo

São José do Rio Preto
2022

O48a

Oliveira, Mariana Dâmaris

Avaliação e aplicação de bagaço de malte e bagaço de mandioca modificados no processo de clarificação de cerveja artesanal / Mariana Dâmaris Oliveira. -- São José do Rio Preto, 2022
180 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Vanildo Luiz Del Bianchi

Coorientador: Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo

1. Tecnologia de alimentos. 2. Administração de resíduos. 3. Cerveja. I.
Título.

Mariana Dâmaris de Oliveira

Avaliação e aplicação de bagaço de malte e bagaço de mandioca modificados no processo de clarificação de cerveja artesanal

Tese apresentada como requisito para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão examinadora

Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi - Orientador

UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Maurício Bonatto Machado de Castilhos

UEMG – Campus Frutal

Prof. Dr. Tiago Carregari Polachini

UNESP – Campus de São José do Rio Preto

Prof^a. Dra. Márcia Luzia Rizzato

IFSP - Campus Matão

Prof. Dr. Antonio Roberto Giriboni Monteiro

UEM – Universidade Estadual de Maringá

São José do Rio Preto

19 de agosto de 2022

“Minhas raízes estão no ar, minha casa é qualquer lugar
Se depender de mim, eu vou até o fim!
Voando sem instrumentos, ao sabor do vento
Se depender de mim, eu vou até o fim...
Eu não vim até aqui pra desistir agora...”
(Engenheiros do Hawaii)

AGRADECIMENTOS

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

Ao meu irmão Lucas, que me deu de presente as sobrinhas Maria Rita e Lívia, minha fonte de abastecimento de força, amor e resiliência. Sempre que tudo pareceu dar errado, a pureza e alegria delas contagiam minha vida e me impulsionam a continuar os desafios.

À Mariana (eu mesma), pela persistência diante de tantos desafios, por ter saído da zona de conforto e viver essa aventura e experiência tão fantástica, por aceitar a oportunidade de amadurecer e expandir os horizontes. Por se permitir errar tantas vezes, mas também acertar e desenvolver este trabalho. Olhando pra todas estas páginas eu sinto muito orgulho de você garota!

Agradeço ao meu orientador, Professor Vanildo, que não mediu esforços para contribuir com a pesquisa, e que além dos ensinamentos voltados ao trabalho, transformou esses anos do doutorado em uma experiência de vida, de amizade, de amadurecimento. Pelos conselhos, parceria, por acreditar em mim quando nem eu acreditei. Você é um profissional fantástico e um ser humano excepcional!

Ao meu coorientador, Professor Manuel, por acreditar e acompanhar o meu trabalho desde a graduação, sempre contribuindo com a pesquisa e transmitindo conhecimento. Pelos conselhos e confiança. Por despertar em mim o interesse tecnológico e científico pela cerveja, descobrindo pequenos detalhes que tornaram este mundo cervejeiro ainda mais interessante e encantador.

À minha grande amiga Larissa, obrigada por estar comigo nos momentos bons, mas, muito, muito obrigada por estar ao meu lado nos momentos ruins, por sempre me ouvir e apoiar, pela parceria e por proporcionar uma convivência sempre leve e prazerosa.

Aos colegas de laboratório Mariana, Arturo, Rafael, Igor, Jorge, João Vitor, Carolina K, Carolina. Em especial ao Guilherme pela generosidade e disponibilidade de sempre contribuir com seus conhecimentos e dividir a estrutura para a produção das cervejas e experimentos.

Aos demais amigos que fiz no programa no decorrer desses quatro anos de doutorado, em especial a Jéssica, Maria Paula, Elisa, Thiago, Wellington, Marcelo, Julio, Maurício e Suzane.

Agradeço a contribuição de algumas pessoas e laboratórios que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. A Flávia e ao laboratório de Cereais que permitiram a utilização do moinho de bolas, DSC, RVA e Raio-X. Ao Laboratório de secagem e a Laís e Ana Paula pela utilização do colorímetro. Ao departamento de química e a Cibeles pela utilização do TG.

Aos professores membros da banca examinadora, pelas contribuições e correções feitas neste trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos passados e pelo convívio. Aos técnicos, Luiz, Tânia e Alana, por serem sempre prestativos e eficientes na assistência, pela disponibilidade e amizade que fizemos no decorrer do processo.

Às amigas que fiz na fase final do doutorado, Maísa, Sara e Geice, obrigada por ouvir as minhas lamentações e me apoiar nos momentos de desespero. Finalmente a tese está finalizada!

À Unesp e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, pela oportunidade de realizar este curso e estrutura fornecida.

À CAPES pelo suporte financeiro. "O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho e por fazer essa jornada parecer mais leve.

Muito obrigada!

RESUMO

Durante a fabricação de cervejas, alguns compostos podem causar características indesejáveis ao produto final, como, por exemplo, a turbidez causada pelo excesso de proteínas. Este trabalho teve como objetivo utilizar agentes clarificadores provenientes de resíduos agroindustriais da indústria cervejeira (bagaço de malte) e de fecularia (bagaço de mandioca). Para tanto, foi feito um tratamento alcalino no bagaço de malte e um tratamento ácido no bagaço de mandioca, de modo a adequá-los para as etapas posteriores. Foi efetuada a caracterização de cada um deles (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, fibras brutas, carboidratos), e realizadas as modificações químicas de oxidação e fosfatação. A eficiência dos tratamentos e das modificações foi avaliada (determinação do teor de grupos carboxilas, determinação do teor de grupos carbonilas, teor de grupos fosfatos, moagem e granulometria, cor, poder de inchamento e solubilidade, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e raio X) e os produtos obtidos foram aplicados no processo de fabricação de cerveja artesanal, visando à obtenção de uma bebida límpida, com teor de proteínas reduzido, sem alterar suas características sensoriais. Os tratamentos foram eficientes na modificação de componentes dos bagaços (diminuição da quantidade de proteínas e de amido e exposição de celulose). As modificações químicas incluíram cargas negativas em proporções diferentes ao incrementar reagentes modificadores. O processo de moagem foi eficiente em reduzir o tamanho das partículas das amostras tratadas e modificadas, sendo que apenas o bagaço de mandioca oxidado obteve um rendimento menor de partículas finas em moinho de facas, em comparação com as outras amostras. As cervejas avaliadas obtiveram clarificação efetiva para ambas as fontes botânicas de bagaços testados, sendo que algumas modificações alcançaram resultados mais satisfatórios que a goma carragena, durante as etapas de processo e armazenamento. Em um aspecto global, sugere-se que os bagaços têm potencial para clarificação de cerveja artesanal e aumento da estabilidade coloidal durante o envelhecimento. A aplicação desses bagaços modificados pode ser um atrativo para as microcervejarias, pelo fácil acesso e baixo custo, além de ser uma alternativa ambientalmente viável.

Palavras-chave: Resíduo agroindustrial. Estabilidade coloidal. “Trub”. Celulose. Modificação química.

ABSTRACT

During the manufacture of beer, some compounds can cause undesirable characteristics to the final product, such as, for example, turbidity caused by excess proteins. This work aimed to use clarifying agents from agro-industrial residues from the brewing industry (malt bagasse) and starch (cassava bagasse). Therefore, an alkaline treatment was carried out on the malt bagasse and an acid treatment on the cassava bagasse, in order to adapt them for the later stages. The characterization of each one of them (moisture, ashes, proteins, lipids, crude fibers, carbohydrates) was carried out, and the chemical modifications of oxidation and phosphate were carried out. The efficiency of treatments and modifications was evaluated (determination of the content of carboxyl groups, determination of the content of carbonyl groups, content of phosphate groups, grinding and granulometry, color, swelling power and solubility, thermogravimetry, differential scanning calorimetry and X-ray) and the products obtained were applied in the craft beer manufacturing process, aiming to obtain a clear drink, with reduced protein content, without altering its sensory characteristics. It was concluded that the treatments were efficient in modifying bagasse components (reduction in the amount of proteins and starch and exposure of cellulose). Chemical modifications included negative charges in different proportions by increasing modifying reagents. The milling process was efficient in reducing the particle size of the treated and modified samples, and only the oxidized cassava bagasse had a lower yield of fine particles in a knife mill, compared to the other samples. The evaluated beers obtained effective clarification for both botanical sources of tested pomace, and some modifications reached more satisfactory results than the carrageenan gum, during the process and storage stages. In a global aspect, it is suggested that bagasse has the potential to clarify craft beer and increase colloidal stability during aging. The application of these modified bagasse can be an attraction for microbreweries, due to its easy access and low cost, in addition to being an environmentally viable alternative.

Keywords: Agroindustrial residue. Colloidal stability. Trub. Cellulose. Chemical modification.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Vista superior: (A) Cevada de duas fileiras, (B) Cevada de seis fileiras...	19
Figura 2. Estrutura do grão de cevada.	21
Figura 3. Estrutura da flor feminina de lúpulo.	24
Figura 4. Fluxograma do processamento de cerveja.....	28
Figura 5. Reação de hidrólise das amilases.	30
Figura 6. Processo de hidrólise do amido durante a mosturação e teste de iodo. ...	31
Figura 7. Processo de filtração do mosto e lavagem do bagaço de malte.	32
Figura 8. Interações entre proteína e polifenol.	42
Figura 9. Desenvolvimento da turbidez permanente.	44
Figura 10. Número de cervejarias registradas no Brasil.....	48
Figura 11. Evolução da produção de raiz de mandioca no Brasil.....	51
Figura 12. Estrutura lignocelulósica (celulose, hemicelulose e lignina).	53
Figura 13. Reação do pré-tratamento em material lignocelulósico.....	55
Figura 14. Oxidação da celulose e a formação de grupos carbonilas e carboxilas. .	63
Figura 15. Reação de fosfatação da celulose com tripolifosfato de sódio.	64
Figura 16. (A) Bagaço de malte coletado da indústria e seco, (B) Bagaço de malte moído, (C) Bagaço de mandioca coletado da indústria, (D) Bagaço de mandioca moído.	76
Figura 17. Bagaço em reação (A), Bagaço lavado e filtrado (B) e bagaço seco (C).	77
Figura 18. Bagaço antes da hidrólise (A) e Bagaço hidrolisado (B).	78
Figura 19. Comportamento do poder de inchamento (A) e solubilidade (B) dos bagaços nativos e tratados.....	86
Figura 20. Avaliação de TG (A e C) e DTG (B e D) dos bagaços de malte e mandioca nativos e tratados.....	88
Figura 21. Espectros de raio X dos bagaços MN, MT, CN e CT.	91
Figura 22. Bagaços de malte e de mandioca oxidados: (A) MO1, (B) MO2, (C) MO5, (D) CO1, (E) CO2, (F) CO5.	101
Figura 23. Bagaços de malte e de mandioca fosfatados: (A) MF3, (B) MF9, (C) MF15, (D) CF3, (E) CF9, (F) CF15.....	102
Figura 24. Moagem grossa e moagem fina: (A) Bagaços de malte oxidados (1, 2 e 5%), (B) Bagaços de mandioca oxidados (1, 2, 5%), (C) Bagaços de malte fosfatados (3, 9 e 15%), (D) Bagaços de mandioca fosfatados (3, 9 e 15%)	105
Figura 25. Poder de inchamento (A) e solubilidade (B) dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.	115
Figura 26. Poder de inchamento (A) e solubilidade (B) dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.	116
Figura 27. Picos TG e DTG dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.....	118
Figura 28. Picos TG e DTG dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.....	120
Figura 29. Difrátogramas dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.....	123
Figura 30. Difrátogramas dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.....	124

Figura 31. (A) Processo de fervura do mosto, (B) Processo de decantação do “trub” em proveta de 1000 mL e 100 mL (“Hot Break”).	138
Figura 32. Teste rápido para verificar o comportamento de decantação.	140
Figura 33. Demonstração das frações avaliadas por sólidos suspensos e massa seca.	142
Figura 34. Comparação do “trub” obtido de uma amostra contendo bagaço modificado (1) e goma carragena (2).	147
Figura 35. Avaliação da redução de compostos fenólicos utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).	149
Figura 36. Avaliação da redução de compostos fenólicos utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).	150
Figura 37. Avaliação da redução de proteínas utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).	152
Figura 38. Avaliação da redução de proteínas utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).	154
Figura 39. Avaliação da redução de turbidez utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).	156
Figura 40. Avaliação da redução de turbidez utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).	158
Figura 41. Avaliação da redução da absorbância utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).	160
Figura 42. Avaliação da redução da absorbância utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).	161
Figura 43. Avaliação de sólidos suspensos totais (a) e massa seca (b) utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante o shelf life.	163
Figura 44. Avaliação de sólidos suspensos totais (a) e massa seca (b) utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante o shelf life.	164

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tipos de malte, classificação e utilização.	23
Tabela 2. Evolução das cervejarias por estado nos anos entre 2017 e 2020.	49
Tabela 3. Comparação de diferentes métodos de pré-tratamento.	57
Tabela 4. Composição centesimal dos bagaços de malte e mandioca nativos e tratados.	82
Tabela 5. Avaliação da eficiência da moagem em moinho de facas e moinho de bolas das amostras de bagaço de malte e mandioca nativos e tratados.	84
Tabela 6. Avaliação colorimétrica dos bagaços de malte e de mandioca nativos e tratados.	85
Tabela 7. Avaliação de TG e DTG dos bagaços nativos e tratados.	87
Tabela 8. Picos endotérmicos e exotérmicos de MN, MT, CN e CT.	89
Tabela 9. Apresentação das amostras, codificações e modificações realizadas.	100
Tabela 10. Avaliação da eficiência da modificação por oxidação com hipoclorito de sódio e fosfatação com tripolifosfato de sódio em bagaço de malte.	108
Tabela 11. Avaliação da eficiência da modificação por oxidação com hipoclorito de sódio e fosfatação com tripolifosfato de sódio em bagaço de mandioca.	110
Tabela 12. Avaliação da eficiência da moagem do moinho de facas e moinho de bolas em amostras de bagaço de malte modificados.	112
Tabela 13. Avaliação da eficiência da moagem do moinho de facas e moinho de bolas em amostras de bagaço de mandioca modificados.	113
Tabela 14. Avaliação colorimétrica das amostras de bagaço de malte oxidados e fosfatados.	114
Tabela 15. Avaliação colorimétrica das amostras de bagaço de mandioca oxidados e fosfatados.	114
Tabela 16. Picos termogravimétricos dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.	117
Tabela 17. Picos termogravimétricos dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.	119
Tabela 18. Curvas de DSC dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.	121
Tabela 19. Curvas de DSC dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.	122
Tabela 20. Apresentação das amostras, codificações e modificações realizadas.	136
Tabela 21. Pontos de amostragem avaliados na clarificação da cerveja.	139
Tabela 22. Avaliação da sedimentação pelo teste rápido no mosto quente e mosto frio.	146
Tabela 23. Avaliação das características físico-químicas da cerveja avaliada após o envase.	166

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	Principais insumos utilizados na produção de cerveja	16
3.1.1	Água	17
3.1.2	Cevada	19
3.1.2.1	Maltagem	21
3.1.3	Lúpulo	23
3.1.4	Levedura	25
3.1.4.1	Ale	26
3.1.4.2	Lager	27
3.2	Processo de farificação de cerveja	28
3.2.1	Moagem	28
3.2.2	Mosturação	29
3.2.3	Filtração	31
3.2.4	Fervura	32
3.2.5	Separação de partículas sólidas	35
3.2.6	Resfriamento e Fermentação	36
3.2.7	Maturação e acabamento	38
3.3	Clarificação da cerveja e formação de turbidez	40
3.3.1	Uso de clarificantes	44
3.3.2	Goma carragena	45
3.4	Produção industrial de alimentos e bebidas e a geração de resíduos ..	47
3.4.1	Indústria cervejeira e a produção de bagaço de malte	47
3.4.2	Indústria farinheira e fecularia e a produção de bagaço de mandioca ..	50
3.5	Características e pré-tratamentos do resíduo lignocelulósico	52
3.5.1	Celulose	53
3.5.2	Hemicelulose	54
3.5.3	Lignina	54
3.6	Tipos de pré-tratamentos do resíduo lignocelulósico	55
3.6.1	Pré-tratamento mecânico	58
3.6.2	Pré-tratamento físico	58
3.6.3	Pré-tratamento químico	59
3.6.3.1	Hidrólise ácida	59
3.6.3.2	Hidrólise alcalina	60
3.6.4	Pré-tratamentos combinados	61
3.7	Modificações químicas	61
3.7.1	Oxidação	62
3.7.2	Fosfatação	63
3.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
4	EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO FIBROSA DO BAGAÇO DE MALTE SUBMETIDO A TRATAMENTO ALCALINO E DO BAGAÇO DE MANDIOCA SUBMETIDO A TRATAMENTO ÁCIDO	72
4.1	Resumo	72
4.2	Abstract	72
4.3	Introdução	73

4.4	Material e métodos	75
4.4.1	<i>Material</i>	75
4.4.1.1	Obtenção e preparação dos bagaços de malte e de mandioca	75
4.4.2	<i>Preparo das amostras</i>	76
4.4.2.1	Tratamento alcalino no bagaço de malte	76
4.4.2.2	Tratamento ácido no bagaço de mandioca	77
4.4.3	<i>Caracterização dos bagaços nativos e tratados</i>	78
4.4.3.1	Composição centesimal	78
4.4.3.2	Moagem e Granulometria	79
4.4.3.3	Análise de Cor	79
4.4.3.4	Poder de inchamento e Solubilidade	79
4.4.3.5	Termogravimetria (TG)	80
4.4.3.6	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	80
4.4.3.7	Difração de Raios X	81
4.4.4	<i>Análises estatísticas</i>	81
4.5	Resultados e discussões	81
4.5.1.1	Composição centesimal	81
4.5.1.2	Moagem e Granulometria	84
4.5.1.3	Análise de Cor	85
4.5.1.4	Poder de inchamento e Solubilidade	85
4.5.1.5	Termogravimetria (TG)	87
4.5.1.6	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	89
4.5.1.7	Difração de Raios X	90
4.6	Conclusões	91
	Referências	92
	Anexos I	94
5	AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BAGAÇO DE MALTE E BAGAÇO DE MANDIOCA SUBMETIDOS A MODIFICAÇÕES QUÍMICAS (OXIDAÇÃO E FOSFATAÇÃO) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	97
5.1	Resumo	97
5.2	Abstract	98
5.3	Introdução	98
5.4	Material e métodos	100
5.4.1	<i>Material</i>	100
5.4.2	<i>Amostragem e codificação</i>	100
5.4.3	<i>Obtenção dos bagaços modificados</i>	101
5.4.3.1	Oxidação	101
5.4.3.2	Fosfatação	101
5.4.4	<i>Caracterização aniônica e estrutural dos bagaços modificados</i>	102
5.4.4.1	Determinação do teor de grupos carboxilas	102
5.4.4.2	Determinação do teor de grupos carbonilas	103
5.4.4.3	Teor de fósforo e grupos fosfatos	104
5.4.4.4	Moagem e granulometria	104
5.4.4.5	Análise de Cor	105
5.4.4.6	Solubilidade e poder de inchamento	106
5.4.4.7	Termogravimetria (TG)	106
5.4.4.8	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	106
5.4.4.9	Difração de Raios X	107
5.5	Análises estatísticas	107
5.6	Resultados e Discussões	107

5.6.1	<i>Determinação do teor de grupos carboxilas, carbonilas e fosfatos.....</i>	107
5.6.2	<i>Influência da modificação dos bagaços por moagem e granulometria</i>	111
5.6.3	<i>Análise de Cor</i>	114
5.6.4	<i>Solubilidade e poder de inchamento.....</i>	115
5.6.5	<i>Termogravimetria (TG)</i>	116
5.6.6	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	120
5.6.7	<i>Raio X.....</i>	122
5.7	Conclusões.....	124
	Referências.....	125
	Anexos II	128
6	AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE BAGAÇO DE MALTE E BAGAÇO DE MANDIOCA MODIFICADOS (OXIDAÇÃO E FOSFATAÇÃO) NA ATUAÇÃO COMO FLOCULANTE NATURAL PARA A CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL	132
6.1	Resumo.....	132
6.2	Abstract.....	133
6.3	Introdução.....	133
6.4	Material e métodos.....	135
6.4.1	<i>Material.....</i>	135
6.4.2	<i>Fabricação das cervejas - Padronização da metodologia</i>	136
6.4.2.1	<i>Produção das cervejas.....</i>	137
6.4.3	<i>Estratégia</i>	138
6.4.4	<i>Avaliação do potencial clarificante de cerveja</i>	139
6.4.4.1	<i>Teste Rápido.....</i>	139
6.4.4.2	<i>Determinação de compostos fenólicos totais</i>	140
6.4.4.3	<i>Doseamento de proteínas pelo método de Bradford.....</i>	141
6.4.4.4	<i>Turbidez</i>	141
6.4.4.5	<i>Absorbância a 600 nm</i>	141
6.4.4.6	<i>Sólidos suspensos totais e massa seca do “trub” decantado</i>	141
6.4.5	<i>Caracterização físico-química da cerveja</i>	142
6.4.5.1	<i>Análise de pH.....</i>	143
6.4.5.2	<i>Teor alcoólico.....</i>	143
6.4.5.3	<i>Acidez total.....</i>	143
6.4.5.4	<i>Amargor</i>	143
6.4.5.5	<i>Cor</i>	144
6.4.5.6	<i>Extrato original ou primitivo</i>	144
6.4.5.7	<i>Extrato real.....</i>	144
6.4.5.8	<i>Grau real de fermentação</i>	145
6.4.6	<i>Análises estatísticas</i>	145
6.5	Resultados e discussões	145
6.5.1	<i>Teste Rápido</i>	145
6.5.2	<i>Determinação de compostos fenólicos totais</i>	148
6.5.3	<i>Teor de proteínas totais.....</i>	151
6.5.4	<i>Turbidez.....</i>	155
6.5.5	<i>Absorbância a 600 nm.....</i>	159
6.5.6	<i>Sólidos suspensos e massa seca do “trub” decantado.....</i>	162
6.5.7	<i>Caracterização físico-química da cerveja</i>	166
6.6	Conclusões.....	168
	Referências	169
	Anexos III.....	172

1 INTRODUÇÃO

A cerveja é a bebida alcoólica mais antiga e a mais consumida no mundo (KAWA-RYGIELSKA et al., 2019). É definida pela legislação brasileira como bebida produzida por fermentação alcoólica por ação de leveduras que transformam os açúcares contidos no mosto de malte principalmente em álcool etílico e dióxido de carbono, com adição de lúpulo (BRASIL, 2009, 2019a).

A elaboração de uma cerveja deve ser realizada de forma criteriosa em todas as etapas do processo, pois pequenos detalhes podem influenciar negativamente na aceitação do produto final. Com exceção de alguns estilos, é desejável que a cerveja, especialmente a estilo American Lager, apresente um aspecto limpo, visto que a turbidez é julgada pelos consumidores como defeito ou baixa qualidade (GASSARA et al., 2015; REINOSO-CARVALHO et al., 2019). Com o propósito de evitar esse tipo de inconveniente, a clarificação da cerveja pode ser realizada com o auxílio de um agente clarificante, que vai impedir que as partículas que causam turbidez permaneçam suspensas na bebida finalizada (GASSARA et al., 2015; ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018).

Na etapa de fervura do mosto, as proteínas provenientes do malte são desnaturadas pelo efeito da temperatura e tendem a ligar-se com os compostos fenólicos presentes no lúpulo, formando um complexo capaz de precipitar, podendo ser parcialmente eliminadas (formação do “trub”) (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019; WARD, 1995). Para potencializar essa reação, pode-se adicionar um composto clarificante, sendo que entre os mais utilizados, principalmente na produção artesanal, está a goma carragena do tipo kappa. Esta apresenta-se como um polissacarídeo negativamente carregado ($-\text{OSO}_3^-$), que forma interação eletrostática com macromoléculas como a proteína (cargas positivas), e em altas temperaturas e pH favorável podem formar um complexo proteína-carragena e causar a precipitação a quente (“hot break”) (HATANAKA; GIGANTE, 2009; DEMIATE, 2008; SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019).

Apesar da goma carragena ser expressivamente utilizada no processo de clarificação de cerveja artesanal, esse é um campo a ser explorado. Em 2015, Gassara et al. realizaram um estudo sobre o mecanismo de ação da quitosana e quitina em contato com as proteínas do mosto e obtiveram resultados satisfatórios. Saluri, Robal e Tuvikene (2019) avaliaram a utilização de carragenas híbridas no

processo de clarificação, conseguindo resultados melhores em comparação a outros estudos.

O mercado de cervejas está em desenvolvimento acelerado e o segmento de micro-cervejarias artesanais tem crescido exponencialmente, em que a busca por diversidade de produtos é cada vez maior. Sendo assim, busca-se novas formas de melhorar o processo de produção e oferecer produtos de qualidade. Por outro lado, a produção de resíduos gerados também aumenta na mesma proporção. A indústria alimentícia de forma geral compartilha desse problema. Outro exemplo de geração de resíduos industriais são as fecularias de mandioca, que, ao obter o amido, produz uma grande quantidade de bagaço. Contudo, é de extrema importância um melhor aproveitamento tecnológico destes resíduos. Para tanto, podem ser aplicadas modificações físicas e/ou químicas para que este apresente propriedades e/ou características desejadas em aplicações específicas (KAUR et al., 2012). Algumas modificações podem resultar em um material negativamente carregado (LI et al., 2009) e essa carga negativa é capaz de reagir com proteínas através das ligações eletrostáticas (LI et al., 2012).

Diante disso, acredita-se que os grupos fosfatos e carboxilatos provenientes da modificação da celulose presente no bagaço de malte e de mandioca, carregados negativamente, possam agir como precipitadores de proteínas, apresentando ação clarificante no processo de fabricação de cerveja. É importante salientar que não há nenhum estudo na literatura relacionado a utilização de bagaço de malte ou de mandioca aplicados na clarificação de cerveja. Assim, este trabalho pode fornecer informações sobre uma nova opção de clarificante, apresentando-se como uma alternativa sustentável.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral desse projeto foi modificar os bagaços de malte e de mandioca e investigar a utilização destes no processo de clarificação de cerveja, visando à obtenção de um produto com estabilidade coloidal, limpo, sem afetar as características físico-químicas e sensoriais.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar tratamentos químicos nos bagaços de malte e de mandioca para posterior modificações químicas.
- Determinar a composição centesimal dos bagaços de malte e de mandioca nativos e tratados.
- Modificar quimicamente os bagaços tratados de malte e de mandioca, com tripolifosfato de sódio e hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, promovendo a formação de cargas negativas.
- Realizar a caracterização dos bagaços nativos, tratados e modificados quimicamente (teor de grupos carboxilas, de grupos carbonilas e de grupos fosfatos, moagem e granulometria, poder de inchamento e solubilidade, cor, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e raio X).
- Avaliar o efeito da adição dos bagaços no processo de clarificação de cerveja (velocidade de decantação (teste rápido), compostos fenólicos, teor de proteínas, turbidez, absorbância, sólidos suspensos totais e massa seca do decantado), em todas as etapas de processo, comparando com o clarificante goma carragena e com uma cerveja sem clarificante.
- Verificar a estabilidade coloidal das cervejas produzidas com a adição dos bagaços modificados durante o “shelf life” (estocagem acelerada em estufa a 60 °C por 24, 48, 72 e 96 horas).
- Realizar a caracterização das cervejas artesanais, por meio de análises físico-químicas (pH, teor alcoólico, acidez, amargor, cor, brix final, extrato original ou primitivo, extrato real e grau de fermentação).

APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

Este trabalho foi organizado em quatro capítulos para melhor distribuição e compreensão dos assuntos abordados. O Capítulo I compreende a revisão bibliográfica. O Capítulo II explana a caracterização dos bagaços de malte e de mandioca nativos e submetidos a tratamentos químicos para obtenção da fração fibrosa. O Capítulo III apresenta um estudo sobre a caracterização dos bagaços de malte e de mandioca modificados por oxidação e fosfatação, sendo que os resultados foram discutidos separadamente por fonte botânica. O Capítulo IV refere-se à aplicação dos bagaços modificados como clarificantes na produção de cerveja artesanal. Os resultados foram discutidos separadamente para os bagaços de malte e os bagaços de mandioca em cada etapa testada.

Capítulo I

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Principais insumos utilizados na produção de cerveja

A cerveja é a bebida alcoólica mais antiga e popular do mundo, com no mínimo de 8000 anos de história. Na idade média, essa bebida já havia sido incluída nos hábitos alimentares (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017; LI; WANG; LIU, 2016).

A cerveja é uma bebida resultante da fermentação alcoólica do extrato aquoso do malte de cevada com lúpulo. O processo cervejeiro é consequência de múltiplos estágios, envolvendo a conversão biológica de materiais *in natura* em produto final (BRASIL, 2009).

As etapas de produção de cerveja seguem o embasamento semelhante aos dos séculos anteriores. As modificações são feitas principalmente em novos equipamentos e controle de processo, especialmente para aumentar a produtividade. Em diversos países, a cerveja é a principal bebida consumida, liderando o mercado de bebidas alcoólicas. Considerando o mundo inteiro, a cerveja é a segunda bebida mais consumida, acompanhando o chá. Na indústria de alimentos, o setor cervejeiro tem uma posição econômica estratégica, com uma produção mundial anual de cerca de 190 bilhões de litros (BERNARDI et al., 2019; LI; WANG; LIU, 2016). As cervejas, artesanais ou comerciais, podem ter diferentes aromas, texturas e sabores, apresentando uma alternativa lucrativa aos negócios em vários mercados ao redor do mundo (BERNARDI et al., 2019).

A cerveja é uma bebida complexa que contém mais de 3000 compostos diferentes, incluindo carboidratos, proteínas, micro-organismos, ácidos orgânicos, polifenóis, entre outros (ANDERSON et al., 2019). Dada a sua composição, é uma bebida com propriedades bioativas positivas e, portanto, tem potenciais efeitos benéficos em humanos, embora estes efeitos sejam dose-dependentes, especialmente no que se refere ao teor alcoólico (GONZÁLEZ-SANJOSÉ; RODRÍGUEZ; VALLS-BELLÉS, 2016). A composição de cada matéria-prima fornece uma característica específica e, quando se combinam durante o processo de fermentação, tem um enorme impacto no caráter final da cerveja e permite a grande

variedade de estilos disponíveis atualmente (PARKER, 2011). Assim, é possível uma infinidade de possibilidades para produzir um produto de qualidade (WUNDERLICH; BACK, 2009). Sabendo disso, é importante conhecer sobre cada ingrediente essencial utilizado no processo.

3.1.1 Água

A água como matéria-prima cervejeira é especialmente importante, pois constitui mais de 90% da mesma. Além disso, a produção de cerveja é uma atividade muito intensiva e utiliza de 5 a 10 vezes mais água do que a quantidade de cerveja produzida. Isto porque, além da água para produção, há o uso para o aquecimento e resfriamento, como também para limpeza de equipamentos e lavagem de garrafas (ANDERSON et al., 2019; GONZÁLEZ-SANJOSÉ; RODRÍGUEZ; VALLS-BELLÉS, 2016; PALMER; KAMINSKI, 2013; PARKER, 2011; ROSA; AFONSO, 2015; TELES, 2007; ZUPPARDO, 2010). Uma lista completa de métodos analíticos aprovados para análise de água sob a lei da água limpa pode ser encontrada no site da EPA (EPA, 1974).

A sua importância é tanta que a disponibilidade e qualidade da água são fatores decisivos na escolha do local para a instalação de uma cervejaria (ZUPPARDO, 2010). Tradicionalmente, essas eram estabelecidas onde havia um suprimento abundante de água, e a sua composição influenciava no estilo da cerveja que era produzida. Assim, as águas duras de Burton-on-Trent, que têm altos níveis de sulfatos de cálcio e magnésio, produzem cervejas amargas de estilo pale ale. Outro exemplo é a Guinness®, que foi originalmente fabricada com água dura de Dublin. Já as águas moles de Pilsen contêm pequenas quantidades de íons (exceto carbonatos), e produzem lagers que têm um palato suave e arredondado. Hoje, em muitas cervejarias, a composição salina da água é facilmente ajustada para corresponder à da Burton (uma prática chamada Burtonização), ou os sais são removidos se uma cerveja estilo Pilsen estiver sendo preparada (PALMER, 2006; PARKER, 2011).

Sabendo que certos íons influenciam o próprio processo de fermentação e outros contribuem para o sabor e a sensação na boca (PALMER, 2006; PARKER, 2011), os íons de maior preocupação com a qualidade da cerveja são cálcio, magnésio, sódio, cloreto e sulfato. O cálcio, embora sem sabor, trabalha para proteger, estabilizar e promover a atividade enzimática no mosto. Além disso, favorece

a coagulação proteica durante a fervura do mosto, precipita o oxalato, evitando a posterior turvação da bebida, estimula o metabolismo e também a floculação da levedura. Já o magnésio possui efeito similar ao cálcio, porém em menor intensidade. Entretanto, níveis acima de 30 mg/L podem conferir um amargor desagradável para a cerveja. O sódio pode tornar o sabor do malte mais adocicado, quando em baixas concentrações, mas também pode interagir com o cloreto para promover um gosto salgado. O cloreto fornece uma qualidade mais redonda, mais completa e mais doce à cerveja e também é usado para diminuir a alcalinidade. Uma quantidade moderada de sulfato pode influenciar no amargor e acentuar o sabor do lúpulo, bem como adicionar à secura de algumas cervejas (PALMER; KAMINSKI, 2013; PARKER, 2011; ROSA; AFONSO, 2015).

Alguns aspectos da água tem influência nas propriedades da cerveja como sabor, espuma, turbidez, cor, entre outros. Além de requisitos básicos como a potabilidade, transparência, ausência de cor/odor, estar livre de qualquer sabor estranho, a água deve assegurar um pH desejável da mistura de malte e adjunto durante a mosturação, promover extração dos componentes de amargor e aromáticos do lúpulo, como também uma boa coagulação do “trub” (proteínas) durante a fervura do mosto e permitir uma fermentação asséptica. Se o pH estiver alcalino, poderá ocasionar a dissolução de materiais existentes no malte e nas cascas, que são indesejáveis no processamento (GONZÁLEZ-SANJOSÉ; RODRÍGUEZ; VALLS-BELLÉS, 2016).

O pH mais baixo favorece a enzima β -amilase, a qual possui pH ótimo ao redor de 4,7. Um mosto produzido com água ausente de cálcio possui pH entre 5,8 e 6,0 enquanto que um mosto produzido com água tratada com cálcio possui pH entre 5,3 e 5,5. Esta enzima promove a quebra do amido em maltose, tornando o mosto mais fermentável. Proteínas presentes no mosto formam precipitados com cálcio e liberam íons H^+ em solução, favorecendo um pH mais ácido, que é propício para que as enzimas do tipo protease (presentes no malte e que possuem pH ótimo na faixa de 4,5 a 5,0) realizem a conversão de proteínas em estruturas menores denominadas de Amino Nitrogênio Livre (FAN). Estes compostos são utilizados pelas leveduras durante a fermentação para a produção de aminoácidos. Sendo assim, o aumento do nível de FAN no mosto proporciona melhores condições para as leveduras durante a fermentação. Por outro lado, o excesso de proteínas é indesejável, dificultando as etapas de filtração e as proteínas de alto peso molecular também são susceptíveis à

formação de turbidez na cerveja, diminuindo também o tempo de vida de prateleira (TELES, 2007; ZUPPARDO, 2010).

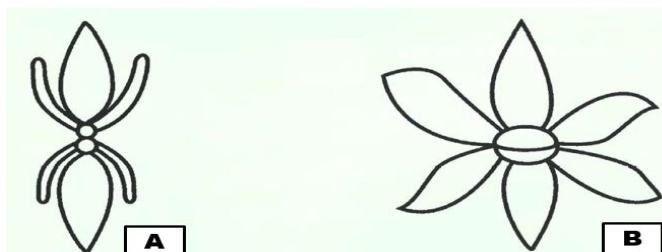
Outro componente que deve-se ter atenção é o cloro, que precisa ser eliminado da água, por que no processo de fabricação vai agir alterando o sabor e impedindo a ação das enzimas, prejudicando todo o desenvolvimento da cerveja, além de resultar em características sensoriais desagradáveis (PALMER; KAMINSKI, 2013).

3.1.2 Cevada

A cevada (*Hordeum vulgare*) é quantitativamente o segundo ingrediente mais importante para a cerveja (WUNDERLICH; BACK, 2009). Várias razões fazem desse cereal uma matéria-prima adequada para a sua fabricação, pois a cevada é fácil de germinar e pode produzir uma grande quantidade de hidrolases. Tem uma composição química com alto conteúdo de amido e moderado conteúdo proteico, que beneficiará a propagação da levedura e produzirá sabor favorável à cerveja. É plantada em todo o mundo e sua produção ocorre em clima tropical. Além disso, as cascas de cevada podem agir como um meio natural para a filtração do mosto (LI; WANG; LIU, 2016).

A cevada é uma gramínea pertencente ao gênero *Hordeum*, cujos grãos na espiga são alinhados em duas ou seis fileiras (Figura 1). Essa diferença não é apenas morfológica. A cevada de seis fileiras, quando comparada a de duas, apresenta menor teor de amido, maior riqueza proteica, seus grãos são menos uniformes e possuem cascas mais grossas. Portanto, a cevada de seis fileiras pode apresentar alguma dificuldade na produção de malte e na moagem dos grãos na cervejaria, menor rendimento na mosturação, mas, por outro lado, facilita a filtração do mosto e aceita maior proporção de adjunto na formulação da cerveja (LI; WANG; LIU, 2016; ZUPPARDO, 2010).

Figura 1. Vista superior: (A) Cevada de duas fileiras, (B) Cevada de seis fileiras.



Fonte: Boan; Collini e Perez (2014).

A composição química dos cultivares de cevada segue estritos parâmetros de qualidade quanto a variedade, tamanho, conteúdo proteico e potencial de modificação. Devem, ainda, apresentar altos teores de amido para aumentar o rendimento da produção da bebida. O grão de cevada consiste em casca, pericarpo, testa, aleurona, endosperma e embrião. Esses componentes são facilmente distinguidos um do outro em uma seção transversal do grão de cevada (Figura 2).

A casca é a camada exterior, que protege tanto o embrião quanto o endosperma. Compreende componentes insolúveis, como a celulose, minerais e substâncias gomosas. Contém compostos fenólicos que provocam sabor adstringente se forem muito removidos durante o cozimento. É aberta no microporo, permitindo a entrada de água. A cobertura exterior da semente é chamada de pericarpo, e fica sob a casca e fusionada com a testa. Possui estrutura cerosa e impermeável. A testa trata-se de uma membrana muito fina que envolve a semente. É semipermeável, possui microporos, permitindo a passagem de oxigênio e água (fundamentais ao processo de germinação) (WUNDERLICH; BACK, 2009).

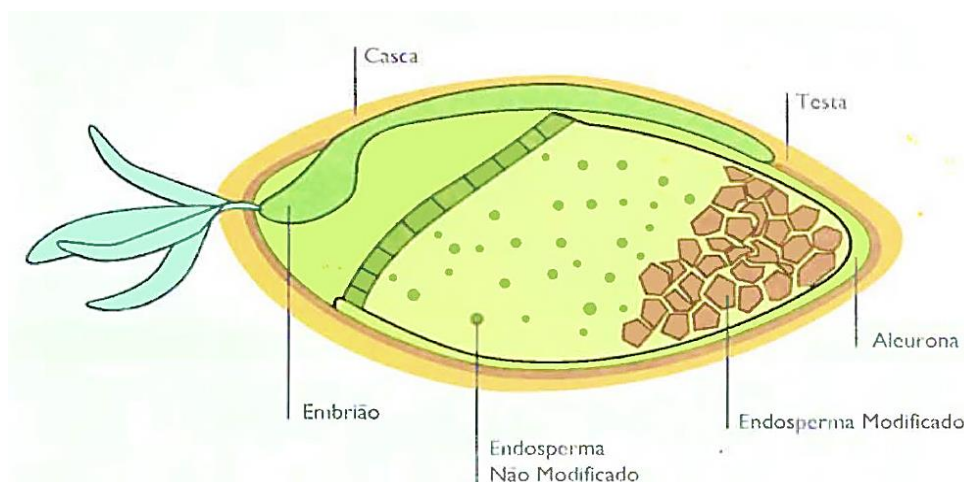
A primeira camada de células que envolve o endosperma amiláceo é das células de aleurona, que normalmente tem de duas a três camadas de células de espessura, formando um importante reservatório de lipídeos e um composto complexo de proteínas e polissacarídeos. Este tecido de aleurona contém células vivas, e junto com o germe, contém as únicas células viáveis no grão. Estas estão envolvidas na produção de enzimas hidrolíticas como a α -amilase e várias outras enzimas hidrolíticas para mobilizar as reservas alimentares no endosperma para o embrião em desenvolvimento durante a germinação, mas não é degradado durante a maltagem (LI; WANG; LIU, 2016).

O endosperma é a fonte de amido que será utilizada para a subsequente conversão em álcool e dióxido de carbono. Cerca de 63% do peso seco do grão é amido, composto de amilose (20–25%) e amilopectina (75–80%). A amilopectina é uma molécula mais complexa do que a amilase e pode absorver água em sua estrutura macromolecular para facilitar a degradação enzimática. O amido é bloqueado em células rígidas feitas de β -glucanas, pentosanas e proteínas que, por sua vez, são envolvidas em uma matriz proteica (BOAN; COLLINI; PEREZ, 2014). O teor de proteína na cevada varia entre 8% e 13,5%, sendo que um terço pode estar presente na cerveja final. A proteína é encontrada no embrião e principalmente no endosperma, e está dividida em quatro frações: albuminas, globulinas, prolaminas e

gutelinas. Prolaminas e gutelinas são proteínas de armazenamento. Albuminas e globulinas são importantes para características de espuma e coloidais da cerveja (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017).

O embrião é um tecido vivo que está adormecido no momento da colheita, mas no processo de germinação tem a função de desenvolver as enzimas essenciais para o processo cervejeiro (BOAN; COLLINI; PEREZ, 2014; WUNDERLICH; BACK, 2009).

Figura 2. Estrutura do grão de cevada.



Fonte: Boan; Collini e Perez (2014)

3.1.2.1 Maltagem

Em termos simples, a maltagem é a germinação controlada de grãos de cereais. Essa visa o desenvolvimento enzimático, com a ativação de enzimas presentes no cereal não maltado (LAŠTOVIČKOVÁ; BOBÁLOVÁ, 2012). Formam-se enzimas, principalmente α -amilase, β -amilase e proteases, que serão utilizadas na conversão das matérias-primas em mosto cervejeiro. Depois de transformado, o malte é fornecedor dos açúcares, entre outras substâncias, necessários para o processo de fermentação. O malte ainda fornece a casca, que é utilizada como auxiliar de filtração na clarificação do mosto (PARKER, 2011; ROSA; AFONSO, 2015).

O processo de maltagem engloba três etapas fundamentais, a maceração (embebição), a germinação e a secagem.

Na maceração, os grãos devem absorver água suficiente para iniciar o processo de germinação. Os grãos de cevada são submersos em água e permanecem até atingirem um teor de umidade correspondente a um aumento de cerca de um quarto do seu volume. O teor de umidade deve aumentar entre 42-46% (WILLOWS;

WORDEN; MIRZAEI, 2017). Durante, a água é absorvida através da região do embrião. O tempo de absorção depende da variedade da cevada, sensibilidade à água, temperatura e do processo de maceração utilizado. É necessário que a água seja drenada, para que o grão obtenha o oxigênio necessário para respirar e não metabolize suas reservas anaerobicamente. No entanto, excesso de oxigênio pode provocar germinação precoce (DANERI-CASTRO; SVENSSON; ROBERTS, 2016; PARKER, 2011).

Ao final dessa fase, se inicia a germinação, com ativação e síntese de enzimas responsáveis pela hidrólise da proteína e das paredes celulares do endosperma, eliminando a barreira física que separa as enzimas amilolíticas do amido. Assim, é facilitado o acesso ao amido que será hidrolisado em açúcares e, posteriormente, consumidos pela levedura durante a fermentação no processo cervejeiro. As modificações enzimáticas iniciam-se no embrião e vão progredindo no sentido do centro do grão. A água também solubiliza o ácido giberélico (hormônio vegetal), que é transportado até a camada de aleurona e induz a síntese da enzima α -amilase. A α -amilase é produzida no endosperma onde, juntamente com a β -amilase, irá catalisar a hidrólise do amido. As cadeias longas do amido são hidrolisadas em cadeias mais curtas e açúcares. Nessa fase, as proteases e β -glucanases também são ativadas. A completa modificação dos grãos engloba a total desagregação das β -glucanas, da matriz proteica e dos grânulos de amido (LAŠTOVIČKOVÁ; BOBÁLOVÁ, 2012; PALMER, 2006; TELES, 2007).

Na germinação, a umidade e a temperatura são controladas, e os grãos permanecem durante 4 a 5 dias, que é o tempo que levam para atingir uma adequada modificação. A temperatura deve situar-se próxima a 18 °C, e se necessário proporcionar ventilação adequada para garantir a respiração dos grãos e evitar um nível de umidade elevado. Isso contribui para reduzir a concentração de dióxido de carbono, resultante da respiração (DANERI-CASTRO; SVENSSON; ROBERTS, 2016).

No final, é obtido o malte verde que possui as enzimas e o nível de desagregação do endosperma desejado e que se encontra com um teor de umidade de 40 a 44%. A germinação é interrompida pela secagem dos grãos de malte, que ocorre em secadores, que trabalham com fluxo de ar quente, para a remoção da umidade do grão (LI; WANG; LIU, 2016). É nessa fase que se incorpora a maior parte do sabor característico do malte ao grão. Essa é uma etapa em que se definem

parâmetros importantes para a obtenção de um produto final com as características e qualidade desejada. O objetivo principal é interromper as reações bioquímicas no grão e fixar as suas características. A umidade do malte é reduzida de 45% para 4-5%. Após este processo, o malte permanece no secador para resfriamento e segue para os silos de armazenamento (MACLEOD; EVANS, 2015).

O processo de maltagem desenvolve características específicas, que vão refletir no estilo de cerveja produzido, aromas e sabores diversos (Tabela 1).

Tabela 1. Tipos de malte, classificação e utilização.

Tipo de Malte	Classificação do Malte	Utilização
Malte Pilsner	Malte Base	É um malte básico para a elaboração de qualquer tipo de cerveja, de alto poder enzimático.
Malte Crystal	Malte Especial	Confere cor dourada, aroma e sabor caramelo.
Malte Defumado	Malte Especial	Transmite sabor e aroma de defumado para a cerveja.
Malte Viena	Malte Base	Possui bom poder enzimático, usado para cervejas âmbar.
Malte Carapils	Malte Especial	Confere corpo, e sabor na cerveja.
Malte Caramelo	Malte Especial	Confere cor dourada, aroma e sabor caramelo.
Malte Acidulado	Malte Especial	Reduz o pH do mosto.
Malte Munique	Malte Base	É indicado para cervejas alemãs, como a Altbier e a Dunkel.
Malte Chocolate	Malte Especial	Confere cor, aroma e sabor, sendo utilizado em cervejas escuras.
Malte Preto	Malte Especial	Confere cor, aroma e sabor, sendo utilizado em cervejas escuras.
Malte Caramunich	Malte Especial	Confere cor dourada, aroma e sabor caramelo.
Malte Pale ale	Malte Base	É um malte com alto poder enzimático, indicado para ales.
Malte Biscuit	Malte Especial	Confere aroma e sabor torrado na cerveja, lembrando biscoito.

Fonte: Schuina (2018).

3.1.3 Lúpulo

O lúpulo (*Humulus lupulus L.*) é um dos materiais indispensáveis na produção de cerveja. Começou a ser utilizado para esse fim em 1079. Com o objetivo de prolongar a vida útil da cerveja, os alemães adicionaram lúpulo ao processo de produção pela primeira vez. Desde então, o lúpulo tornou-se o único material usado

para promover à cerveja sabor, aroma, amargor e atividade conservante únicos. As diferenças nas variedades e tecnologias de adição trazem características específicas de sabor à cerveja. Portanto, é geralmente considerado que o lúpulo tem um efeito significativo na fabricação de cerveja (ANDERSON et al., 2019; LI; WANG; LIU, 2016).

O lúpulo é uma espécie de trepadeira perene, que pertence ao gênero *Humulus* da família *Urticaceae*. Os antigos o consideravam como um material medicinal. A planta é dióica (apresenta flores masculinas e femininas), sendo que as flores femininas e os frutos recorrentes são ricos em glândulas amarelas, contendo resinas (15%), que conferem o gosto amargo, e óleos essenciais, que são responsáveis pelo aroma, os quais caracterizam a bebida. A base do cone de lúpulo tem muitas partículas amarelas, formando a lupulina, também comumente conhecidas como "pólen" (Figura 3), mas, na verdade, são resinas e óleo de lúpulo segregados pelas glândulas de lúpulo. Trata-se de uma cultura dos climas frios do hemisfério norte, sendo os países do norte europeu e os Estados Unidos os grandes produtores (ROSA; AFONSO, 2015; ZUPPARDO, 2010).

O lúpulo também possui ação anti-séptica, pois os ácidos iso-alfa são bacteriostáticos e contribuem para a estabilidade do sabor e da espuma da cerveja, além de ajudar na coagulação de proteínas. Sob a ótica cervejeira, as frações mais importantes da lupulina são as resinas e os óleos essenciais. As resinas são constituídas principalmente de α -ácido (humulona) e β -ácido (lupulona), compostos responsáveis pelo amargor da cerveja (ANDERSON et al., 2019; LI; WANG; LIU, 2016; WUNDERLICH; BACK, 2009)

Figura 3. Estrutura da flor feminina de lúpulo.



Fonte: Li, Wang, Liu (2016) (Adaptada)

As dosagens de lúpulo dependem da espécie (variedade) e características para cada tipo de cerveja. Apesar de proteínas, lipídios, celulose, açúcares e aminoácidos estarem presentes em pequenas proporções nesta matéria-prima, apenas os óleos essenciais, substâncias minerais, polifenóis e resinas são fundamentais no processo cervejeiro, embora a maior parte destes sejam arrastados com o vapor durante a fervura do mosto. Mas isso é desejável, uma vez que altas concentrações deixariam a cerveja intragável (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2015; GONZÁLEZ-SANJOSÉ; RODRÍGUEZ; VALLS-BELLÉS, 2016).

Os polifenóis são responsáveis por 4 a 8% dos componentes do lúpulo, dependendo principalmente das espécies e do histórico de crescimento. Eles podem ser divididos em quatro categorias: ácidos fenólicos, flavonóis, catequinas e antocianidinas. As propriedades dependem muito do grau de polimerização. Os polifenóis de baixo peso molecular são antioxidantes naturais e representam, em grande parte, o poder redutor do mosto, protegendo assim a cerveja contra a oxidação e melhorando a estabilidade do sabor. Polifenóis de peso molecular maior contribuem para a formação do “trub” e, se não forem devidamente retirados, podem causar turbidez na cerveja (LI; WANG; LIU, 2016).

3.1.4 Levedura

Durante o final do século XIX, o microbiologista Emil Christian Hansen conseguiu isolar uma célula e cultivar uma levedura pura destinada a fermentação de bebidas fermento-destiladas, o que foi um evento marcante na história da fermentação da cerveja (LI; WANG; LIU, 2016).

A levedura desempenha um papel decisivo na qualidade da cerveja. É definida como ser unicelular pertencente a taxonomia dos fungos, geralmente do gênero *Saccharomyces*. Na presença de oxigênio, estes micro-organismos multiplicam-se, mas, na sua ausência, realizam a fermentação alcoólica do mosto cervejeiro, metabolizando os açúcares fermentescíveis (maltose, glicose e maltotriose) para produzir álcool, CO₂, energia na forma de ATP (adenosina tri-fosfato) e calor, que são essenciais para a produção de cerveja (BOAN; COLLINI; PEREZ, 2014; WUNDERLICH; BACK, 2009).

Além do malte, lúpulo e outros ingredientes que podem ser utilizados para dar determinadas propriedades à cerveja, a levedura também ajuda a definir o seu caráter

sensorial (SHOPSKA et al., 2019). Alguns aromas e sabores produzidos durante a fermentação, como florais, frutados ou minerais, são desejados e indicados para diferentes estilos de cerveja. Por outro lado, a fermentação pode resultar em produtos considerados *off-flavors* ou defeitos de fabricação. Pode-se citar o diacetil (aroma e paladar que lembra a manteiga), oxidado (cartão/papel), ou solvente (tipo acetona) (PALMER, 2006; STEWART, 2014).

Atualmente, grande parte das cervejarias têm suas próprias variedades especiais, cujas características de produção são obtidas por pesquisas de longo prazo. Quando a característica de produção das cepas não pode atender a demanda do produto e dos consumidores, a obtenção de novas linhagens se torna essencial. Os métodos de reprodução mais comumente utilizados são o melhoramento genético, cruzamento e engenharia genética (LI; WANG; LIU, 2016).

Existem centenas de variedades de leveduras, sendo que, habitualmente, se dividem em dois grandes grupos: as leveduras de fermentação alta (*Saccharomyces cerevisiae*) típicas das Ale e as leveduras de fermentação baixa (*Saccharomyces uvarum*, antes conhecidas por *Saccharomyces carlsbergensis*) típicas das Lager. Esses dois tipos de linhagens são bem diferentes em características genéticas, fermentativas e fisiológicas. Essas diferenças para os dois tipos de leveduras são essenciais para a qualidade da cerveja: velocidade de fermentação, taxa de consumo de substrato, tolerância à temperatura, características de floculação e o perfil de metabólitos acumulados (LI; WANG; LIU, 2016; SHOPSKA et al., 2019; STEWART, 2014; WUNDERLICH; BACK, 2009).

3.1.4.1 Ale

No passado, “Ale” foi o termo usado para caracterizar cervejas fermentadas de malte de cevada, sem ter lúpulo na sua composição. Atualmente, o termo é usado para se referir a cervejas fermentadas em temperaturas mais altas que cervejas Lager, entre 15 °C e 26 °C, dependendo da estirpe. A levedura usada na fermentação de cerveja é chamada levedura de fermentação de topo, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*. Glicose, maltose, sacarose e rafinose podem ser fermentados por leveduras ale, enquanto melibiose e lactose não podem ser fermentados (LI; WANG; LIU, 2016).

A levedura de alta fermentação é hidrofóbica, sendo que as células são

arrastadas por CO₂ (produto de fermentação), formando uma película na superfície do tanque. Neste caso, a fermentação normalmente ocorre em alguns dias, sendo que as cervejas produzidas segundo este método são tendencialmente mais alcoólicas e conservam-se por mais tempo (SHOPSKA et al., 2019; STEWART, 2014; WUNDERLICH; BACK, 2009).

O sabor dessa cerveja é diferente. De um modo geral, esta tem mais compostos ésteres e outros produtos secundários de sabor e aroma (PALMER, 2006), trazendo características frutadas. A Ale é uma grande família com numerosos estilos, como Brown Ale, Pale Ale, India Pale Ale, Porter, Stout, Altbier, Kolsch, entre outras. As cervejas inglesas são famosas por usar este tipo de levedura em sua composição (LI; WANG; LIU, 2016).

3.1.4.2 Lager

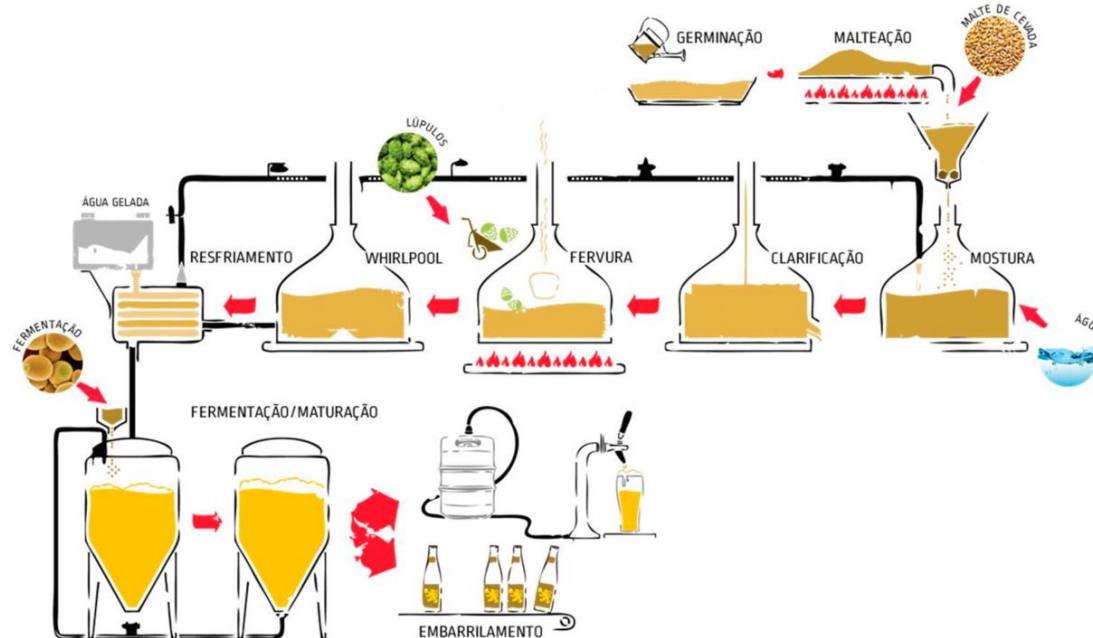
A palavra “Lager” vem do alemão e significa armazenamento, o que indica que a cerveja lager é geralmente armazenada em baixa temperatura por um bom tempo após a fermentação (LI; WANG; LIU, 2016). Na verdade, não apenas a temperatura de armazenamento é baixa, mas também a temperatura de fermentação é relativamente menor do que a da cerveja Ale. Tradicionalmente, a lager é produzida por leveduras de fermentação de fundo a 7–15 °C que, no final da fermentação primária, floculam e decantam no fermentador (SHOPSKA et al., 2019; STEWART, 2014).

A levedura utilizada para cervejas lagers pertencem a uma espécie híbrida dentro da *Saccharomyces*. Glicose, frutose, sacarose, maltose, maltotriose, galactose, rafinose e melibiose podem ser assimiladas pela levedura cervejeira, enquanto isomaltose, isomaltotriose, maltotetraose, dextrina e amido não. Como as leveduras e as condições usadas na fermentação da cerveja lager são muito diferentes das da cerveja ale, têm perfis sensoriais mais neutros. Esse tipo de cerveja costuma enfatizar os aromas e sabores das matérias-primas, lembrando grãos, biscoitos e pães. O aroma adocicado do malte e frescor do lúpulo são características da cerveja lager. Leveduras de baixa fermentação são utilizadas para cervejas como Pilsen, Dortmund, Marzen, Bock e American Lager (BERNARDI et al., 2019; HARRISON, 2009; SHOPSKA et al., 2019; WUNDERLICH; BACK, 2009).

3.2 Processo de faricação de cerveja

O processo de produção de cerveja, tanto industrial quanto artesanal, envolve algumas etapas essenciais: moagem, mosturação, filtração, fervura, resfriamento, fermentação e maturação (Figura 4) (GASSARA et al., 2015; NIU et al., 2018). É importante enfatizar que deve-se ter atenção a todo o processo, pois os detalhes podem influenciar no resultado, e a obtenção de um produto final de qualidade depende da efetividade de cada etapa.

Figura 4. Fluxograma do processamento de cerveja.



Fonte: Dadobier (2019) (Adaptada)

3.2.1 Moagem

A moagem constitui um preparo para a mosturação e também tem influência significativa no rendimento da brassagem, isto é, a solubilização máxima do conteúdo do grão do malte. O objetivo é a redução de toda a matéria a um grau uniforme de espessura (VENTURINI FILHO, 2010). Para o malte, busca-se inicialmente romper a casca, para deixar exposta a porção interior do grão. Após isso, tenta-se desintegrar totalmente do endosperma. Faz-se esse processo para que todos os elementos constituintes estejam acessíveis à atuação da ação enzimática, evitando danificar a casca e produzir o mínimo de elementos finos (farinha). Em termos práticos, um malte bem triturado não deve possuir nenhum grão inteiro, e sim um maior número de

cascas rasgadas de um extremo ao outro sem aderência de endosperma, sendo o mesmo reduzido a um tamanho uniforme de partículas (PARKER, 2011; PAVSLER; BUIATTI, 2010).

As cascas dos grãos moídos desempenham importante papel na etapa da filtração e, por isso, deve-se ter muita atenção a elas. Por serem insolúveis, atuam como camada filtrante e evitam que o material particulado fique compactado, permitindo a extração do açúcar à medida que o mosto flui pela camada filtrante (PALMER, 2006).

Existe uma relação intrínseca entre a eficiência na extração e o tamanho das partículas que resultam do processo de moagem. Apesar das partículas maiores possibilitarem uma boa fluidez das correntes e filtração mais eficiente, a conversão de amido em açúcares é prejudicada. Já na moagem fina, ocorre uma melhor extração, pois o ataque enzimático é facilitado em virtude do seu tamanho reduzido, no entanto, tamanho de partícula muito pequeno pode ter um impacto negativo diminuindo os rendimentos de filtração, extraindo taninos e compostos indesejáveis e aumentando a turbidez do mosto (MOUSIA et al., 2004; PALMER, 2006; PASCARI et al., 2018).

Assim, é necessária uma moagem adequada, com equilíbrio entre o tamanho do material particulado e a filtração do mosto, a fim de se ter uma eficiência satisfatória no processo de produção de cerveja. Para tal, utilizam-se moinhos de rolos, de cilindros ou de martelos. A moagem pode ser dividida entre seca e úmida, com a escolha do moinho adequado variando para cada tipo de caso. Na moagem úmida, primeiro há a umidificação dos grãos, seguido de escoamento, moagem e, por fim, enxágue do material. Já na moagem seca, com condicionamento, utiliza-se pouca umidade a fim de diminuir a flexibilidade das cascas, promovendo uma maior resistência (VENTURINI FILHO, 2010).

3.2.2 Mosturação

É considerada uma etapa crítica na produção da cerveja pelo cuidado e precisão que se deve ter com o malte, tempo e temperatura, a fim de se obter a maior quantidade de extrato, sendo possível extrair até 65% de sólidos do malte. A partir do malte moído, adiciona-se água quente sob agitação para começar as atividades enzimáticas (Figura 5) (VENTURINI FILHO, 2010).

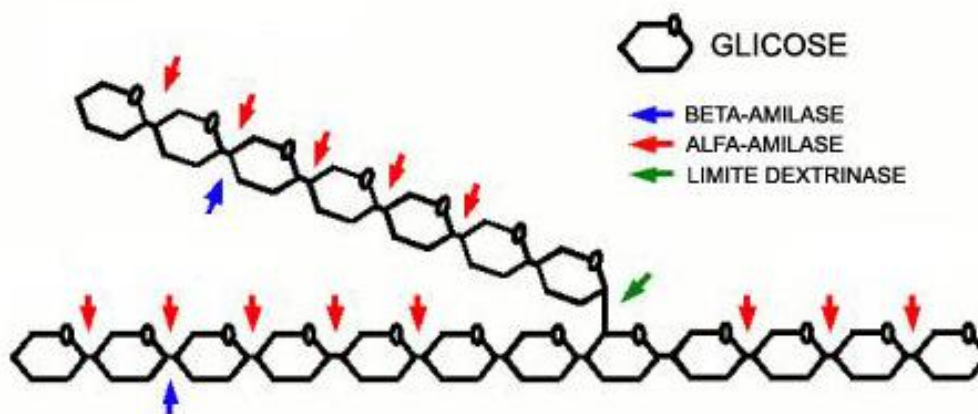
A temperatura ideal para se adicionar o malte na água depende da formulação

desejada, assim como as rampas de atividade enzimática. De forma geral, quatro intervalos de temperaturas específicas são fundamentais. Entre 40-50 °C, ocorre o descanso proteico, responsável pela degradação das proteínas insolúveis em proteínas de médio peso molecular e aminoácidos (BRIGGS et al., 2004). Esse período é importante para o aumento da concentração de aminoácidos essenciais para a fermentação, mas, deve ser controlado para não ocasionar a quebra excessiva de proteínas de alto peso molecular, que são importantes na formação da espuma e podem resultar em turbidez no produto final (PARKER, 2011).

A próxima rampa de temperatura é a 60–65 °C, que favorece a maior atividade das enzimas β -amilase. Esse período é diretamente responsável pelo aumento da concentração de açúcares redutores que irão dar origem ao etanol na bebida. Períodos muito longos nesse intervalo irão causar a sensação de secura na boca devido à alta concentração de álcool e baixa concentração de dextrinas (responsáveis pelo corpo da cerveja) (EBLINGER, 2006).

Para possibilitar a maior atividade das enzimas α -amilase, a temperatura deve ser elevada para 70-75 °C. Assim, são produzidas as dextrinas que fornecem dulçor (corpo) à cerveja, e, dessa forma, contribuem de maneira significativa para o paladar da bebida (EBLINGER, 2006; PASCARI et al., 2018).

Figura 5. Reação de hidrólise do amido.



Fonte: Muxel (2016).

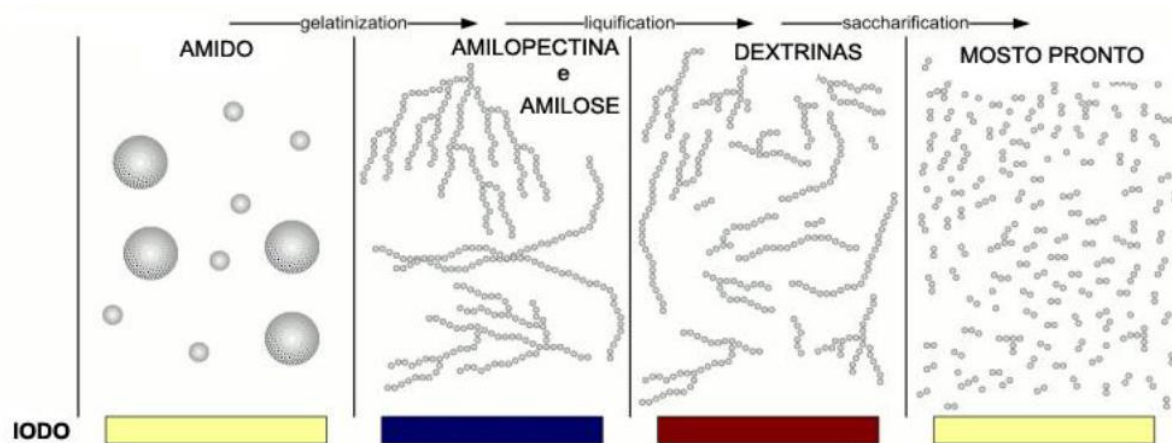
Após as reações enzimáticas, a temperatura deve ser elevada a 78 °C, onde ocorre a desnaturação das enzimas, o que permite uma maior padronização do processo. Temperaturas acima de 78 °C, na presença das cascas do malte, devem ser evitadas, pois o malte possui compostos fenólicos que se solubilizam, causando

amargor e adstringência excessiva (BRIGGS et al., 2004).

Outro fator relevante para a atuação enzimática é o pH. A adição de malte na água resulta em um pH ácido, entre 5 e 6, dependendo da composição inicial da água. Para garantir a eficiente conversão do amido em frações menores, pode ser realizado o teste de iodo. Um indicativo de mosturação satisfatória e a adequada degradação do amido é representado pelo teste negativo do iodo (ausência de coloração azul na reação) (BRIGGS et al., 2004; PARKER, 2011)

A densidade do mosto varia durante o processo de mosturação em função da hidratação do amido. Esse processo pode ser observado em três etapas (Figura 6). A primeira é chamada de gelatinização, onde os grânulos de amido começam a se diluir em água quente, aumentando sua superfície de contato com as enzimas hidrolíticas. Com a atuação da enzima α -amilase, o amido se solubiliza, tendo uma queda na densidade do amido em relação ao gelatinizado (solubilização). Ao final, na sacarificação, a solução não reage com o iodo indicando que o amido foi convertido (VENTURINI FILHO, 2010)

Figura 6. Processo de hidrólise do amido durante a mosturação e teste de iodo.



3.2.3 Filtração

Tem como objetivo a separação do bagaço de malte do mosto líquido, levando-se em conta os aspectos qualitativos (mosto límpido, com baixa turbidez) e econômicos, ou seja, obtenção do máximo de extrato e rapidez de operação (ZUPPARDO, 2010).

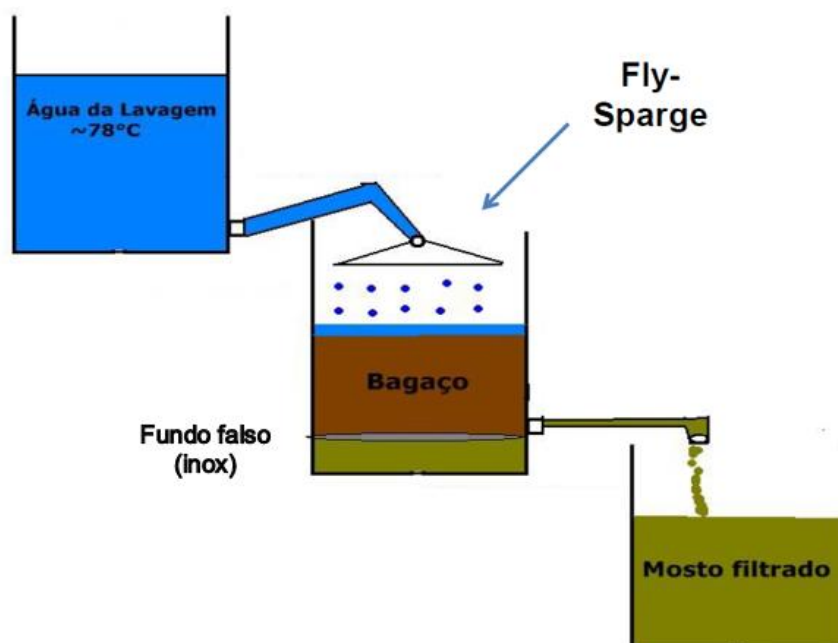
A metodologia de filtração mais utilizada pela indústria cervejeira é de tina de

clarificação de fundo falso, que utiliza uma placa de aço inox com ranhuras. As cascas e materiais insolúveis do malte ficam retidos na parte superior da tina e a parte solúvel passa pelas ranhuras e pelas cascas. Nessa etapa, as cascas funcionam como elemento filtrante (Figura 7) (BRIGGS et al., 2004).

Para aumentar a eficiência desse tipo de filtração, é recomendado o processo de recirculação. O mosto é retirado pelo fundo do reator e depois adicionado novamente pela parte de cima da tina. Dessa forma, o líquido é filtrado várias vezes, obtendo-se assim um mosto mais limpo.

Após essa etapa, lavam-se os grãos filtrados com água quente com o intuito de aumentar a eficiência da extração de componentes solúveis do malte e adjuntos. É importante revolver o bagaço de malte o mínimo possível, para evitar que proteínas e resíduos sólidos sejam transferidos para o mosto filtrado. A temperatura da água não deve ultrapassar os 78 °C, para evitar a solubilização de compostos fenólicos (BRIGGS et al., 2004).

Figura 7. Processo de filtração do mosto e lavagem do bagaço de malte.



Fonte: Muxel (2016) (adaptada)

3.2.4 Fervura

A partir do mosto obtido na filtração, inicia-se a fervura. A finalidade desse procedimento é a desinfecção do mosto, importante para garantir que outros micro-

organismos oriundos do malte não entrem em competição com a levedura no processo fermentativo (MORADO, 2009). Nesse momento, ocorre a evaporação da água em excesso utilizada no processo de lavagem do bagaço, e a desnaturação das poucas enzimas, como também quaisquer outras proteínas, que até então não foram desnaturadas. Portanto, com a fervura, as alterações na composição do mosto não irão mais ocorrer, mantendo-se fixa (VENTURINI FILHO, 2010).

Essa etapa pode durar de 45 a 120 minutos, dependendo da quantidade de lúpulo a ser adicionada e do tipo da cerveja. Esse tempo pode ser diminuído se a fervura for feita em pressões mais elevadas, porém isso não é aplicável à fabricação de todos os tipos de cerveja (EBLINGER, 2006; HARRISON, 2009).

O desenvolvimento da cor está diretamente relacionado com a intensidade da fervura, que ocorre por reações de Maillard entre grupos carbonila e aminoácidos, o que ocasiona a formação de melanoidinas, caramelização dos açúcares, e a oxidação de taninos e polifenóis. No último, se o pH estiver elevado, em presença de ar, pode-se melhorar a estabilidade da cerveja final (MORADO, 2009; RAYMOND, 2006).

A fervura é importante também na formação e eliminação de dimetil sulfeto (DMS) e de seus precursores, que advém da produção do malte e da cerveja. DMS é um composto de enxofre muito volátil, que pode ser percebido na cerveja por odores e sabores desagradáveis (*off-flavor*) de vegetais cozidos, deixando também um sabor rançoso na cerveja. A SMM (S-metilmetionina) é um composto sulfônico, formado pela metilação metabólica da metionina presente no malte, e precursor biologicamente inativo de DMS, que pode ser decomposto ao longo da secagem do malte e durante a fervura do mosto para formar DMS livres e seu precursor ativo DMSO (dimetilsulfóxido). Quanto mais longa e intensa for a fervura, maior será a quantidade de SMM convertida em DMS e maior será a evaporação desta. A SMM não convertida em DMS na fervura continuará presente no mosto sem poder ser retirada e se converterá em DMS eventualmente. O DMSO presente no fermentador pode, em alguns casos, ser metabolizado pelas leveduras, levando à formação de DMS, o que confere *off-flavor* à cerveja (BRIGGS et al., 2004; RAYMOND, 2006).

O lúpulo pode ser adicionado ao mosto em diversos momentos durante a ebulição, para proporcionar sabor, aroma, além de agir como um agente conservador para cerveja, devido à sua capacidade antisséptica. A adição é feita na fervura, pois os α -ácidos e os iso- α -ácidos presentes no lúpulo sofrem isomerização em torno de 100 °C. A isomerização é rápida e 90% do amargor no mosto final é produzido durante

os primeiros 30 minutos de ebulição, sendo o nível máximo atingido entre 60 e 70 minutos (PALMER, 2006). É importante conseguir um bom rendimento na isomerização por causa da perda de alguns iso-alfa ácidos mais adiante no processo de fermentação. Grande parte dos óleos essenciais é perdida durante a ebulição, o que é um benefício, pois podem causar um alto amargor na cerveja se presentes em níveis muito elevados. No entanto, os lúpulos aromáticos devem ser adicionados minutos antes do final da fervura, para que, no mosto, fique grande parte dos óleos essenciais, afim de conferir aroma na cerveja (ANDERSON et al., 2019).

A utilização de altas temperaturas, juntamente com a faixa ideal de pH, promove a coagulação proteica. A reação ocorre melhor no ponto isoelétrico das proteínas presentes. Além disso, o pH entre 5,0 e 5,2 favorece a conversão dos compostos extraídos do lúpulo, como também contribui para a esterilização do mosto (EBLINGER, 2006). Sabe-se que as proteínas formadoras de espuma são diferentes das formadoras de turbidez e que a estabilidade da espuma é favorecida com a interação de certas cadeias de proteínas (albuminas) com os iso- α -ácidos provenientes do lúpulo, e desfavorecida pelos ácidos graxos, devido à sua ação competitiva sobre os tensoativos peptídicos. A otimização na temperatura de fervura do mosto (menor binômio tempo/temperatura) é essencial para se obter também qualidade de espuma, pois há mais disponibilidade dessas proteínas de alto peso molecular formarem espumas firmes e estáveis (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019).

Os produtos provenientes da reação de proteínas e taninos coagulados com polifenóis, algumas substâncias provenientes do lúpulo que são insolúveis e resíduos insolúveis da fervura em geral, precipitam-se em função do tamanho elevado destas partículas. Especialmente a prolina, proveniente da cevada, com os polifenóis oriundos do lúpulo, interage durante a fervura, formando o “trub”. Esta composição é importante, para que possa ser retirado mais adiante, contribuindo assim, para a estabilidade da cerveja e da sua espuma, como também garantir a cor e sabor desejáveis (MORADO, 2009; SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019). O uso de clarificantes pode maximizar essas interações e favorecer ao aumento de vida-de-prateleira desses produtos.

Essa interação está diretamente relacionada às quantidades de cada insumo no mosto. Portanto, diminuindo-se o nível de um ou de ambos, diminui-se a ocorrência dessas interações e, conseqüentemente, menor incidência de turbidez no produto final. Em média, as cervejas contêm aproximadamente 100-300 mg/L de polifenóis

totais (BRIGGS et al., 2004; VENTURINI FILHO, 2010). Polifenóis incluem todas as moléculas que contêm dois ou mais anéis de fenol. Do lúpulo, derivam os flavonóis (quercetinas) em forma de glicosídeos. Entre outros flavonóides e derivados encontrados estão as catequinas, epicatequinas, galocatequinas e epilocatequinas. Os taninos do malte e do lúpulo são substâncias fenólicas. São classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e condensados. Os taninos condensados são também chamados de proantocianidinas (GONZÁLEZ-SANJOSÉ; RODRÍGUEZ; VALLS-BELLÉS, 2016).

Durante a fervura, há perdas de polifenóis, porém a sua remoção total não é desejável, já que alguns deles têm ação benéfica na cerveja, como no sabor e ação antioxidante, atuando na preservação e na estabilidade do sabor (RAYMOND, 2006).

3.2.5 Separação de partículas sólidas

Após a fervura, é necessário remover o “trub” quente e o que ficou suspenso do lúpulo para garantir o sabor e a estabilidade coloidal da cerveja e evitar o bloqueio das placas do trocador de calor durante o resfriamento do mosto. Se as partículas do “trub” quente não forem removidas, elas afetarão as leveduras e também estimularão estas a sedimentarem durante a fermentação, obtendo-se, assim, uma menor conversão dos açúcares fermentescíveis (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019).

Diferentes técnicas podem ser usadas para remover o “trub” quente do mosto. Os processos de separação são baseados nas diferentes densidades e tamanhos, destacando-se a sedimentação, a centrifugação, o “whirlpool” e a filtração. A separação do “trub” quente em um “whirlpool” é um dos métodos mais eficazes e eficientes. Em um recipiente cilíndrico, o mosto, após a fervura, é bombeado tangencialmente, produzindo um fluxo rotacional no vaso e provocando um descanso a quente no mosto. Isso faz com que o “trub” se instale na forma de um cone no meio da parte inferior do cilindro e o mosto clarificado seja retirado do vaso pela lateral (BRIGGS et al., 2004; RAYMOND, 2006). Na produção artesanal é realizada a agitação circular e repouso do mosto para a decantação das partículas sólidas no centro do equipamento.

3.2.6 Resfriamento e Fermentação

O resfriamento deve ser efetuado rapidamente, sob condições assépticas, para interromper possíveis reações químicas e minimizar a probabilidade de crescimento de quaisquer micro-organismos. Os trocadores de calor mais utilizados para esse resfriamento são os de placa, que são compactos, eficientes e versáteis. Por serem fechados, é mais difícil sua contaminação, mas sua limpeza e esterilização não são simples (BRIGGS et al., 2004).

A fermentação é uma fase em que depende da atuação de organismos vivos, e corresponde, em termos de controle, a um ponto crucial do processamento de cerveja. Na elaboração de uma boa cerveja, vários aspectos podem ser citados na fermentação, tais como a seleção de uma cepa de micro-organismo, se a cerveja será de baixa ou de alta fermentação, concentração celular a ser utilizada para a fermentação, dados de crescimento e morte celular do micro-organismo, tempo e determinação do término da fermentação (LI; WANG; LIU, 2016).

O tipo de cerveja a ser produzido vai depender da matéria-prima utilizada e da linhagem da levedura empregada no processo fermentativo. As cervejas podem ser classificadas em duas grandes categorias principais: ale e lager (Abordado no item 3.4.5). Ambas as cervejas passam pela etapa de fermentação, porém apresentam sabores e aromas distintos para cada tipo de cerveja, resultado do metabolismo das leveduras empregadas. É nesta fase que se empregam cepas de leveduras distintas, uma vez que a temperatura e a linhagem definem o perfil do produto final (LI; WANG; LIU, 2016; VENTURINI FILHO, 2010).

Para as leveduras se reproduzirem, é necessário que o mosto contenha teor suficiente de oxigênio para o crescimento microbiano. Como na fervura o gás dissolvido é removido do mosto, a aeração deste contribui para a sua reprodução. Esta é a única etapa que a presença de oxigênio é favorável. Após, o oxigênio é muito prejudicial à cerveja, pois tem influência negativa sobre características associadas à sua qualidade como a cor, o paladar, e a estabilidade física e química (ZUPPARDO, 2010).

Assim, o mosto está preparado para ser levado à etapa de fermentação, que visa a transformação dos açúcares fermentescíveis em álcool e dióxido de carbono (CO₂), como produtos principais, por meio do metabolismo das leveduras em condições propícias. Uma vez resfriado o mosto, introduz-se o fermento de modo a

obter contagens de células viáveis entre 10^6 e 10^8 células/mL. A adição de levedura deve ser realizada de maneira que as células se repartam uniformemente no substrato principal. A inoculação deve ser controlada, pois a adição de uma quantidade baixa de leveduras acarretará a lentidão nas etapas iniciais da fermentação, também chamadas de adaptação. Em contrapartida, uma inoculação com quantidade de levedura maior do que a ideal pode gerar um consumo descontrolado dos nutrientes, resultando num crescimento baixo e formação acentuada de alguns ésteres, como o acetato de etila, que causa um pronunciado aroma frutado na cerveja final (BRIGGS et al., 2004). Na preparação do substrato, ocorre a formação de espuma na superfície, composta por substâncias que conferem turbidez e que contém proteína e resíduos de lúpulo. A espuma deve ser retirada porque altera a qualidade da cerveja (RAYMOND, 2006).

Ao final de 12-18 horas, a levedura se encontra na fase de crescimento exponencial. Simultaneamente começa a fermentação, que libera uma grande quantidade de calor e de CO_2 e, por isso, é necessário o controle da temperatura do mosto durante a fermentação (GIBSON; NEWSHAM, 2018). A padronização do produto que é fermentado sempre à mesma temperatura tende a manter suas características originais e reprodutíveis, se não houver interferentes (EBLINGER, 2006).

Os outros produtos podem ser álcoois superiores e aromáticos, ésteres, ácidos orgânicos, compostos carbonilados, destacadamente o diacetil, compostos contendo enxofre, cada um destes influenciando de um modo próprio a qualidade, o aroma e o sabor da cerveja resultante (SHOPSKA et al., 2019). A redução do pH, a diminuição da quantidade de oxigênio dissolvido no mosto, alterações na cor, que se torna mais clara, são algumas transformações físico-químicas que ocorrem durante a fermentação (BRIGGS et al., 2004; EBLINGER, 2006; STEWART, 2014).

Uma boa cepa de levedura é aquela que fica em suspensão durante a fermentação e, ao seu término, flocula ou decanta, proporcionando uma separação rápida da cerveja clarificada do seu sedimento. Deve-se providenciar uma fonte de nitrogênio para que a levedura aumente sua biomassa, além de favorecer a velocidade da fermentação. O progresso da fermentação pode ser estimado por meio da atenuação do extrato, ou seja, da diminuição da presença de açúcares fermentescíveis. Pode-se também acompanhar os níveis de diacetil durante a fermentação, uma vez que o diacetil é produzido em grandes quantidades nas etapas

iniciais, mas depois é gradualmente consumido. Além disso, pode-se dizer que a fermentação chegou ao fim quando o CO₂ para de ser produzido (PALMER, 2006).

Algumas cervejarias reutilizam a levedura por muitos anos, sem interrupção, enquanto que outras a reutilizam algumas vezes e, de tempos em tempos, introduzem novas culturas com mesma identidade e pureza. A utilização da mesma levedura se dá por muitos motivos, sendo o principal a redução do nível de contaminação delas e redução de custos. A levedura pode ser tratada com ácido nítrico, sulfúrico, fosfórico, tartárico, entre outros, que eliminam as bactérias, mas não causam danos a ela. O pH deve ser diminuído para aproximadamente 2,2 para que se obtenha o efeito desejado (BRIGGS et al., 2004; EBLINGER, 2006; MORADO, 2009).

A higiene é um requisito para impedir a competição microbiana e causar uma fermentação indesejada. Desinfetar os equipamentos, tanto fermentadores, mangueiras, reatores e juntas com solução alcalina de NaOH, ou ácido peracético permite um ambiente mais adequado para a levedura (LI; WANG; LIU, 2016).

3.2.7 Maturação e acabamento

Pode-se dividir o processo de fermentação da cerveja em duas etapas distintas. A primeira, denominada fermentação primária, cobre a fase de grande atividade metabólica da levedura, durante a qual quase todo extrato fermentável é convertido em etanol e gás carbônico, durante apenas alguns dias (ALMEIDA E SILVA, 2005). A segunda etapa, chamada fermentação secundária, diz respeito ao período de maturação da cerveja (VENTURINI FILHO, 2010).

Durante esta fase, ocorrem reações físico-químicas de transformação do aspecto visual da bebida, além da produção de aromas e sabores característicos e alterações em seu sistema coloidal, proporcionando a clarificação por precipitação de proteínas, leveduras e sólidos solúveis, aumento da estabilidade, e consumo dos compostos indesejáveis originários da etapa anterior (BOAN; COLLINI; PEREZ, 2014; BRIGGS et al., 2004; PARKER, 2011).

A maturação é considerada por muitos cervejeiros como a fase de “afinamento” e “acabamento” da cerveja (MORADO, 2009). Após a fermentação, a cerveja “verde” geralmente tem notas doces, frutais, de álcool e solventes, juntamente com notas frescas de fermento, amêndoas e sulfitos pungentes. Estes, tendem a desaparecer à medida que a cerveja matura, e desenvolvem-se alguns outros atributos, conferindo à

cerveja um sabor mais redondo e suave (HARRISON, 2009).

As leveduras ainda ativas, na maturação, buscam por açúcares e álcoois mais pesados, transformando estes em ésteres, que conferem à cerveja notas frutadas, além de consumirem o diacetil, outro composto chave na maturação, formado na fermentação primária. Concentrações de diacetil acima de 0,05 mg/L promovem sabor perceptível de manteiga à cerveja, proporcionando-lhe um aspecto rançoso. Lentamente, durante a maturação, em temperaturas baixas, o diacetil é convertido em acetoína (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017; PALMER, 2006).

A maturação é conduzida em baixa temperatura (normalmente 0 °C), por um período que varia de duas a quatro semanas (BERNARDI et al., 2019). Mas, em virtude dos custos envolvidos nessa fase, têm-se proposto a redução do tempo de maturação com a adoção de novas técnicas. Por exemplo, algumas cervejarias que, ao terminar a fermentação primária, com a cerveja “verde” apresentando um mínimo de diacetil e nenhum oxigênio dissolvido, maturam a cerveja a 2-4°C por 2 a 4 dias (SHOPSKA et al., 2019). Outros processos envolvem o chamado “repouso do diacetil”. Após a fermentação primária a cerveja é mantida a 12-18 °C por uma semana e, em seguida, armazenada a frio (próximo de 0 °C) por sete dias. Esse método é semelhante ao antigo sistema britânico de armazenamento a “quente”, seguido por outro a frio, para melhorar o paladar da bebida (VENTURINI FILHO, 2010; WUNDERLICH; BACK, 2009).

A cerveja verde, oriunda do fermentador, ainda tem um sabor grosseiro, por falta de maturação, e contém açúcares que fermentam durante o período de maturação ou armazenamento. Nenhum açúcar fermentável (extrato residual) deve ser deixado na cerveja final. Isso aumentaria o risco de contaminação e diminuiria a digestibilidade (EBLINGER, 2006). Geralmente, a cerveja verde tem extrato residual em uma faixa de 6 a 10%. Isto assegura uma formação suficiente de CO₂ durante a maturação. Um outro processo importante é a diminuição do pH de 5,6 para 4,5 durante a fermentação. O meio ácido inibe a contaminação na cerveja final (PAVSLER; BUIATTI, 2010). Outras técnicas modernas incluem a adição de lúpulo ou extrato de lúpulo para equilibrar o aroma e o amargor da cerveja, por meio de lupulagem a frio, chamada de “dry hopping” (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017; GIBSON; NEWSHAM, 2018).

Durante o estágio de condicionamento, ocorre a combinação de proteínas e taninos (sedimentação de moléculas de alta massa), resultando na clarificação da

cerveja. Este período faz com que as proteínas coagulem e se estabeleçam com a levedura, dando melhor estabilidade ao produto final. As proteínas também podem ser removidas pela adição de enzimas, ou clarificantes. O processo de clarificação pode ser acelerado por filtração, centrifugação (também a baixas temperaturas, 0 a -1 °C) ou adição de agentes clarificantes. As leveduras são removidas por filtração e o produto é transferido para tanques de envelhecimento para armazenamento mais prolongado (PASCARI et al., 2018).

A maturação também pode acontecer dentro da garrafa, após o envase. Existe uma técnica chamada “priming”, muito utilizada por cervejeiros caseiros, que baseia-se na adição de uma baixa concentração de açúcares fermentescíveis à cerveja no momento do envase. O objetivo é a produção de mais CO₂ pelas leveduras, por meio de uma nova fermentação na garrafa (MORADO, 2009; RAYMOND, 2006). Muitas vezes, o “priming” é realizado junto com a maturação em garrafa, o que é desaconselhável, pois como o número de leveduras ativas na maturação é bem mais baixo do que na fermentação primária, a levedura será obrigada a passar pelas etapas da fermentação novamente além da maturação. Isso pode gerar subprodutos indesejados, além do gasto de maior quantidade de tempo no processo. A melhor opção é que o “priming” seja feito após a maturação, no momento do envase, pois mesmo com poucas leveduras ativas em suspensão após a maturação, seu número é suficiente para a carbonatação da cerveja (PALMER, 2006).

A cerveja pode ser filtrada para remover a levedura restante e ajustar o nível de carbonatação para acondicionamento em garrafas, latas ou barris. Após a embalagem, é habitual estabilizar a cerveja microbiologicamente por pasteurização ou por filtro estéril. Deve-se ter cuidado ao usar qualquer um dos métodos, pois a pasteurização excessiva pode levar a flocos cozidos na cerveja, e a filtragem excessiva pode remover a cor e o amargor (MORADO, 2009; PARKER, 2011).

3.3 Clarificação da cerveja e formação de turbidez

A qualidade da cerveja pressupõe a ausência de compostos que conferem aspectos indesejáveis (EBLINGER, 2006; GASSARA et al., 2015). Algumas cervejas como a Pilsen são clarificadas com o objetivo de obter uma cerveja limpa e sem turbidez (VAN DER SMAN et al., 2012). A translucidez influencia a preferência do consumidor, pois a turbidez está frequentemente associada à baixa qualidade e

defeitos durante a fabricação (POREDA et al., 2015).

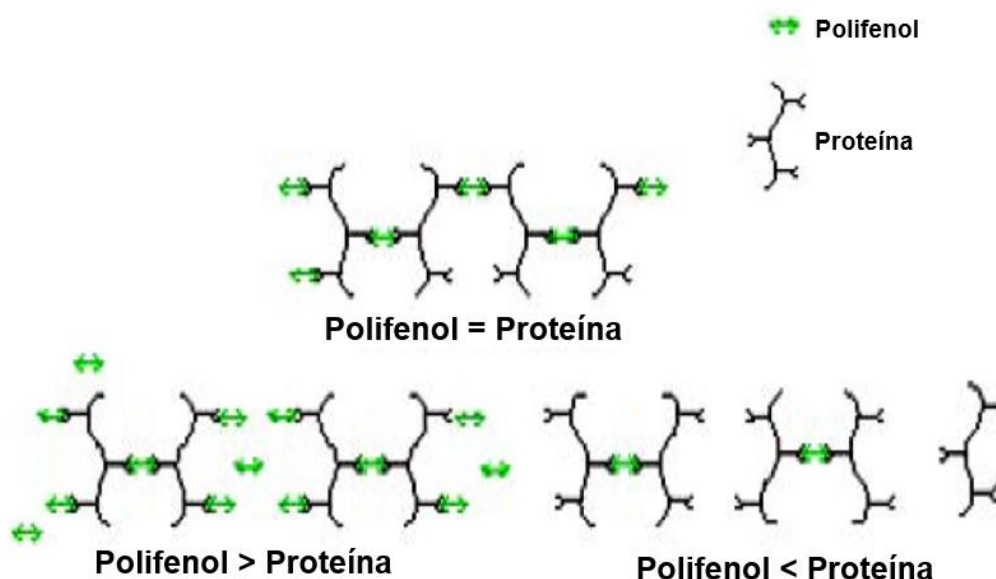
A estabilidade física, também conhecida como estabilidade coloidal, depende de vários fatores que estão relacionados com as matérias-primas, o processo de desenvolvimento e o tipo de clarificante utilizado (POREDA et al., 2015; ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018). Entre os parâmetros mais importantes na avaliação de qualidade estão sabor, presença e permanência de espuma, cor, teor de álcool e presença de resíduos ou precipitados (GASSARA et al., 2015).

A cerveja pode ser considerada uma boa fonte de polifenóis. Estes são provenientes do malte (cerca de 70 a 80%) e do lúpulo (entre 20 e 30%) (BAMFORTH, 2003; JAKUBOWSKI et al., 2016; LI; WANG; LIU, 2016). Os compostos fenólicos podem ser encontrados em sua forma livre ou, mais frequentemente, ligados a outros compostos, como ésteres e glicosídeos. São derivados de ácidos hidro-benzóicos (ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido siríntrico) e ácidos hidroxicinâmicos (ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido caféico) são principalmente extraídos do malte, enquanto que os flavonóis (quercetina, canferol), chalconas (xanthohumol) e flavanonas (isoxanthohumol e prenilnaringenina) são encontrados no lúpulo. Catequinas, procianidinas e taninos derivados de flavonóis são igualmente encontrados no malte e no lúpulo (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018).

Em temperaturas elevadas (acima de 70 °C), ocorre a formação de coágulos grandes (“trub”), pois as proteínas que provocam a turvação são ricas em prolina, que por ter a cadeia aberta combina-se com os polifenóis, formando o complexo proteína-polifenol (GIBSON; NEWSHAM, 2018; WARD, 2019a). Nos cinco primeiros minutos de fervura, formam-se 60% do total de “trub”. Suas partículas variam de 30 a 80 microns. Com uma a duas horas de fervura, é o suficiente para que 95% do “trub” quente formado possa ser removido (NIU et al., 2018). Se houver quantidade semelhante dos dois compostos (Figura 8), a interação será maior, aumentando o sedimento. O mecanismo básico subjacente à interação entre proteínas e polifenóis é que uma molécula de polifenol com pelo menos dois sítios de ligação se liga a duas proteínas e pontes são formadas entre o polifenol e duas proteínas para produzir uma estrutura de 3 membros. Moléculas de polifenol adicionais são capazes de formar uma ligação com esta estrutura de 3 membros, seguida por ligação adicional a moléculas de proteína. Esse processo de construção continua até que o complexo se torne tão grande que não seja mais solúvel na cerveja. A interação proteína-polifenol é reversível, pelo menos inicialmente (em vez de ligação covalente), porque o

aquecimento pode muitas vezes dispersar essa turbidez inicial de proteína-polifenol. Como resultado, a ligação de hidrogênio e o efeito hidrofóbico (mas não a ligação iônica) desempenham um papel importante na interação proteína-polifenol. Essa interação é influenciada principalmente pelas concentrações de proteínas, polifenóis, polissacarídeos, teor alcoólico, oxigênio, pH, temperatura, força iônica e presença de íons metálicos (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018).

Figura 8. Interações entre proteína e polifenol.



Fonte: Elaborada pela autora.

A não coagulação acarreta em cerveja de má qualidade (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018), interferindo negativamente na fermentação, dificultando a captação do substrato pela levedura (bloqueio da membrana). Somente o excesso de proteína coagula na fervura (“trub” quente). Uma fração proteica significativa está presente no resfriamento (“trub” frio) sem precipitar, formando complexos com polifenóis restantes, que então precipitarão antes ou durante a fermentação, contribuindo para o aumento da turbidez (LI; WANG; LIU, 2016; NACHEL, 2008; PAVSLER; BUIATTI, 2010; WUNDERLICH; BACK, 2009).

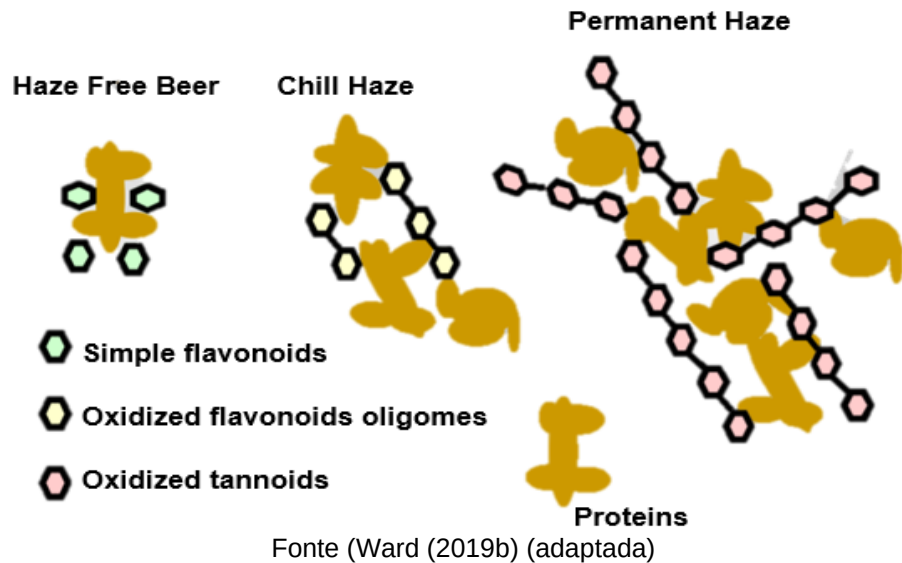
Já o “trub” frio consiste de carboidratos de alto peso molecular (20-30% de β -glucanos) e de produtos de quebra de prolamina e globulina, solúveis no mosto quente e insolúveis no mosto frio. Aproximadamente 15-25% de toda essa proteína se liga com polifenóis, formando complexos de proteína-polifenóis a baixas temperaturas. O peso em média do “trub” frio é de 15-30 g/hL. Esse valor depende de vários fatores como modificação do malte, programa de mosturação, temperatura do mosto e a

presença de lúpulo (JAKUBOWSKI et al., 2016; NIU et al., 2018)

A turbidez a frio (“chill haze”) se desenvolve quando a cerveja é resfriada a 0 °C, o que envolve uma associação não covalente reversível de polifenóis pequenos polimerizados com proteínas. Quando a cerveja é aquecida a 20 °C, esta “neblina” pode ser redissolvida e a cerveja se torna translúcida novamente (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018). Vale ressaltar que nem todos os polifenóis da cerveja estão envolvidos na instabilidade física e participam da formação de “chill haze”, e os flavonóides oxidados podem ter uma forte influência nesse aspecto. Além disso, as estruturas de compostos fenólicos podem evoluir durante a produção e armazenamento da cerveja (Figura 9) (PALMER, 2006). Os polifenóis de “haze active” devem ser capazes de reticular efetivamente proteínas ricas em prolina para formar uma rede estável, causando precipitação. Descobriu-se que os polifenóis com um grau mais alto de polimerização são mais ativos para a formação de turbidez do que aqueles com um peso molecular menor, com um anel aromático, tendo dois grupos hidroxila suficientes para suas interações com proteínas (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018).

O grau de polimerização parece ser um fator mais determinante do que o número de grupos hidroxila. Consequentemente, os mono-fenóis dificilmente são ligados a proteínas, e os meta-difenóis têm afinidades fracas para proteínas, enquanto, orto-difenóis e trifenois exibem afinidades de ligação moderadas e relativamente fortes, respectivamente. A atividade de formação de turbidez dos polifenóis aumenta com a complexidade molecular (trímeros>dímeros>monômeros). Além disso, os monômeros flavan-3-ol, epicatequina, catequina e galocatequina, podem se ligar, mas não se cruzam com proteínas “haze active”, e os ácidos fenólicos não tem capacidade de turvar o meio (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018). Seu tamanho típico está na faixa de 0,5 a 2,0 µm. Essa turbidez permanente consiste em agregados irreversíveis e ainda está presente na cerveja à temperatura ambiente. Seu tamanho está na faixa de 2 a 10 µm. No armazenamento de cerveja engarrafada, a formação de turbidez permanente é um processo lento, mas contínuo (VAN DER SMAN et al., 2012) .

Figura 9. Desenvolvimento da turbidez permanente.



Alguns tipos de cerveja, que não contêm turbidez no momento da embalagem, podem desenvolver esse tipo de complexo, que ocorre pela interação entre proteínas e polifenóis, e pode ser acelerada pela presença de oxigênio e altas temperaturas de armazenamento longo prazo. Assim, a formação de “chill haze” tem sido um problema persistente na indústria cervejeira, influenciando a percepção do consumidor sobre a qualidade do produto (NIU et al., 2018; ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018), além de afetar as características e estabilidade do produto durante a vida de prateleira.

3.3.1 Uso de clarificantes

A translucidez sempre foi considerada como uma qualidade essencial para a maioria dos tipos de cerveja. Por isso, a indústria cervejeira utiliza diversas alternativas para conseguir um produto limpo.

A filtração é amplamente utilizada. Durante a clarificação, a levedura e as partículas sólidas são retidas por um filtro, induzindo o acúmulo de partículas na membrana ou acima dela, aumentando a resistência ao fluxo do filtro e, assim, impactando significativamente a eficiência da filtração. Convencionalmente, a cerveja é clarificada usando sistemas de filtros ou membranas. Entretanto, esse processo é propenso a incrustação, o que pode onerar os custos de operação (VAN DER SMAN et al., 2012).

Outra maneira comum é o uso de terra de diatomáceas. Este material auxiliar opera através de dois mecanismos. Um deles é a criação de ligações de hidrogênio

entre os grupos carboxila de proteínas e os grupos hidroxila da terra diatomácea. O segundo é a absorção das moléculas de proteínas dentro dos poros de terra diatomácea que são do tamanho de 4-8 μm . Apesar de ser muito eficaz na clarificação da cerveja, a terra diatomácea é considerada bastante problemática em termos de saúde e meio ambiente. A exposição ao pó pode causar câncer de pulmão e doença respiratória. Além disso, após a filtração, a terra diatomácea contribui muito para os resíduos sólidos da cervejaria, já que o seu peso inicial é quase triplicado após esse processo (EBLINGER, 2006; POREDA et al., 2015).

Esses impecilhos levam os fabricantes de cerveja a recorrer frequentemente ao uso de agentes clarificadores para impulsionar essa matéria flutuante a se aglomerar e se depositar no fundo do fermentador. Todos os clarificantes podem ser considerados conservantes, pois removem partículas orgânicas da cerveja, que eventualmente poderiam prejudicar suas características e desenvolver sabores e aromas desagradáveis (NACHEL, 2008).

Os agentes clarificantes contribuem para melhorar a clarificação a frio, por conseguinte, a qualidade da cerveja acabada. As partículas microscópicas do mosto podem passar por mais processos floculantes para formar precipitados macroscópicos, durante a ebulição (“hot break”) ou resfriamento (“cold break”) (WARD, 2019a).

A utilização desses agentes floculantes se aplica tanto para ação própria ou em conjunto, visando reforçar a precipitação dessas partículas antes da filtração. Este processo resulta em melhorias na clarificação do mosto frio, em comparação com mostos não adicionados, fornecendo benefício significativo. A reação que acontece nesse procedimento é uma interação eletrostática entre as moléculas carregadas negativamente e os polipeptídios (cargas positivas), gerando uma co-precipitação desses compostos (GASSARA et al., 2015; NACHEL, 2008). O clarificante pode contribuir também ligando-se aos complexos taninos-protéicos, pois essa interação está em suspensão e não consegue decantar, provocando turvação em baixas temperaturas (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019). Um exemplo é a goma carragena.

3.3.2 Goma carragena

As carragenas são um grupo de polissacarídeos naturais que estão presentes na estrutura celular de algas marinhas vermelhas do tipo *Rodophyceae*.

Quimicamente, são poligalactanos, polímeros sulfatados de moléculas alternadas de D-galactose e 3-6 anidro-D-galactose (3,6-AG) unidas por ligações glicosídicas $\alpha(1-3)$ e $\beta(1-4)$ (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019). Na produção de cerveja, a utilização da carragena ajuda na clarificação do mosto e permite a floculação seletiva das proteínas insolúveis, resultando assim em um líquido mais cristalino (POREDA et al., 2015).

Como formulação química de base, as cadeias moleculares destes polissacarídeos apresentam duas características fundamentais: são constituídas a partir de um monômero (galactose) e contêm uma forte proporção de radicais OSO_3^- (24 a 26%), aos quais se deve a carga negativa apresentada pelo composto. O mecanismo exato da reação não é claro, mas acredita-se que a carragena, carregada negativamente, interage com proteínas do mosto carregadas positivamente, formando um complexo insolúvel que precipita (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019). O resultado da interação carragena/proteína depende do pH do sistema e do ponto isoelétrico da proteína (PEDROSO; DEMIATE, 2008). A dosagem correta melhora o rendimento da filtração da cerveja, proporciona maior estabilidade coloidal e uma sedimentação mais compacta, o que leva a perdas reduzidas do mosto (maior quantidade de mosto clarificado pode ser fermentado e cerveja produzida), menor tempo de fervura e uma cerveja mais clara e com maior prazo de validade (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019).

Após a fervura, ocorre a decantação das proteínas que consistem de complexos proteína-proteína ou proteína-polifenol, normalmente promovido pela adição de goma carragena (Irish moss ou Whirlfloc) perto do final da fervura (WOLFE et al., 2012). Além de colaborar com a decantação das proteínas da cerveja, as carragenas são indicadas para estabilizar as emulsões e espumas devido a sua alta capacidade de formar matrizes 3-D e sua forte interação eletrostática (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019).

Assim como a carragena, acredita-se que outros compostos, como bagaço de malte e bagaço de mandioca, se forem carregados negativamente, possam apresentar comportamento semelhante e reagir com as proteínas do mosto. Essa suposição pode fornecer diferentes floculantes ecologicamente sustentáveis como alternativas à clarificação de cerveja.

3.4 Produção industrial de alimentos e bebidas e a geração de resíduos

Em 2011, um estudo da FAO (Food and Agriculture Organization) estimou que aproximadamente um terço de todos os alimentos produzidos para consumo humano em todo o mundo é descartado, representando cerca de 1,3 bilhão de toneladas de resíduos por ano (FAO, 2011; GUSTAVSSON; STAGE, 2011), onde o setor alimentício e agroindustrial tem grande impacto, devido ao consumo excessivo de água e alta produção de resíduos (KARTHIKEYAN; VENKATESH; ARUTCHELVAN, 2015). A agroindústria representa cerca de 10% a 12% destas emissões globais, enquanto o setor alimentar é responsável por 20-30% (GAROFALO et al., 2017). Por isso, o aumento da utilização de recursos renováveis são urgentemente necessários para atender às necessidades de uma população crescente e para construir uma sociedade mais sustentável e equilibrada. Os resíduos da agroindústria e os resíduos gerados na produção agrícola e processamento de alimentos são exemplos de recursos renováveis.

O Brasil possui uma variada e abundante fonte de recursos naturais renováveis, como por exemplo, vários tipos de amido (mandioca, milho, batata) e materiais lignocelulósicos de várias origens, como fibra de coco, sisal, rami e algodão (MELLO, 2014; SATYANARAYANA; ARIZAGA; WYPYCH, 2009). Outros resíduos agroindustriais úteis incluem o bagaço de malte e o bagaço de mandioca.

3.4.1 Indústria cervejeira e a produção de bagaço de malte

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja, com 13,3 bilhões de litros produzidos, atrás, somente, da China (46 bilhões) e dos Estados Unidos (22,1 bilhões). A indústria da cerveja gera mais de 2 milhões de empregos diretos, indiretos e induzidos e representa pouco mais de 2% do PIB. Entre os brasileiros, a categoria de cerveja mais popular continua sendo a *lager*, que representa 91% do volume total de vendas de cerveja no varejo (SINDICERV, 2022).

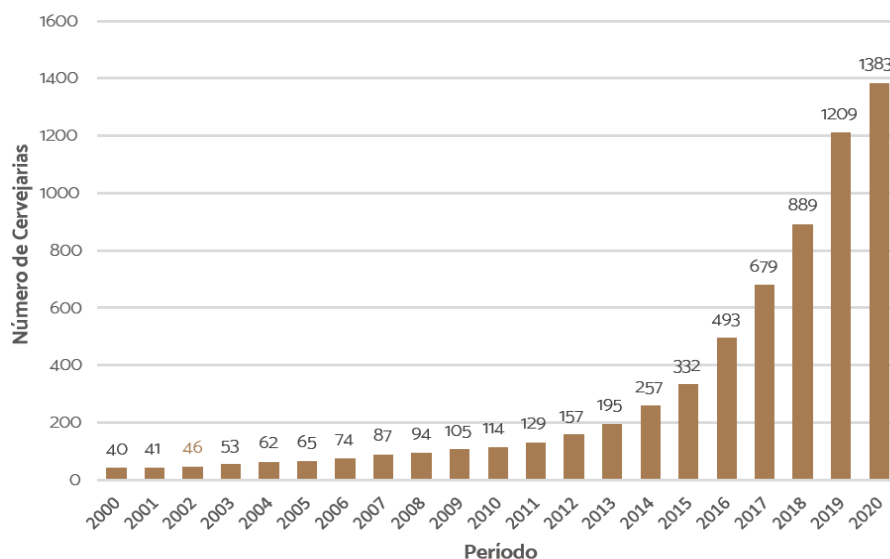
E o mercado cervejeiro ainda tem grande potencial de crescimento, para gerar ainda mais valor a todos. Mesmo diante do cancelamento de grandes eventos e restrições de funcionamento de bares e restaurantes, por causa da pandemia, o consumo de cerveja se manteve em alta em 2021, alcançando o volume de cerca

de 14,3 bilhões de litros, crescimento de 7,7% ante 5,3% em 2020. Em termos de faturamento, a projeção das vendas no varejo apresentou alta de aproximadamente 11% em comparação a 2020 totalizando R\$ 208,8 bilhões ante R\$ 184,5 bilhões, no ano anterior, impulsionado pela força das cervejas premium entre os consumidores (SINDICERV, 2022).

O ano de 2018 obteve um crescimento expressivo de cervejarias, e as regras referentes ao registro de estabelecimentos e produtos no MAPA foram atualizadas. A Instrução Normativa IN nº 72 de 16 de novembro de 2018 (BRASIL, 2019) inovou no dispositivo contido no artigo 11 que versa sobre o registro de produto. Em seu parágrafo único ele descreve que: “o registro será concedido automaticamente, ficando condicionada a disponibilização desta função no sistema SIPEAGRO” (MARCUSO; MÜLLER, 2018).

Em 2020, o Brasil chegou a um total de 1.383 cervejarias registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), um aumento de 14,4% em relação ao ano anterior, segundo o Anuário da Cerveja 2020 (Figura 10) (MAPA, 2021).

Figura 10. Número de cervejarias registradas no Brasil.



Fonte: Anuário da Cerveja 2020 (MAPA, 2021)

A produção de cerveja no Brasil concentra-se em sua maioria na região Sul e Sudeste, representando 85,6%. Entretanto, em 2020, a região Nordeste apresentou uma expansão expressiva de 41,4% de cervejarias registradas (Tabela 2) (MAPA, 2021).

Tabela 2. Evolução das cervejarias por estado nos anos entre 2017 e 2020.

Nº	UF	2017	2018	2019	2020	Crescimento em %
1	São Paulo	124	166	241	285	32,4
2	Rio Grande do Sul	142	184	236	258	22,4
3	Minas Gerais	87	116	163	178	27,7
4	Santa Catarina	78	104	148	175	31,3
5	Paraná	67	93	131	146	30,4
6	Rio de Janeiro	57	62	78	101	21,4
7	Espírito Santo	11	17	34	41	58,4
8	Goiás	21	25	28	33	16,3
9	Bahia	7	12	20	26	56,0
10	Rio Grande do Norte	6	9	20	20	57,4

Fonte: Anuário da Cerveja 2020 (MAPA, 2021)

Apesar do crescimento no ramo cervejeiro apresentar uma contribuição econômica relevante para o país, é de extrema importância considerar a produção dos resíduos, que aumenta na mesma proporção. Um dos subprodutos da indústria cervejeira é o bagaço de malte. O malte utilizado na indústria cervejeira é obtido a partir de cevadas que podem apresentar variação na composição dependendo de variedade selecionada, tempo de colheita e condições de armazenamento (CEREDA, 1985; SANTOS et al., 2003a). A cevada maltada forma alguns compostos através da reação de Maillard, que são responsáveis por conferir cor, sabor, odor e corpo característico e normalmente agradável à cerveja (AQUARONE et al., 2001; CEREDA, 1985).

Depois de transformado, o malte é o fornecedor dos açúcares, entre outras substâncias, necessários para o processo de fermentação (FIX, 1999; MELLO, 2014; SANTOS et al., 2003a). Porém, após a etapa de filtração, o material sólido do malte é separado e deixa de fazer parte das etapas seguintes da fabricação de cerveja, tornando-se um resíduo (bagaço) que representa aproximadamente 85% do total de subprodutos gerados pela indústria cervejeira (JUCHEN et al., 2018; MARDEGAN et al., 2013; MELLO, 2014).

Uma parte deste subproduto é destinada à alimentação animal, mas uma porcentagem significativa não tem destino adequado. Para cada 100 litros de cerveja produzidos, são gerados cerca de 20 kg de bagaço de malte. No mundo, a produção média anual de bagaço de malte é de aproximadamente 39 milhões de toneladas e, no Brasil, estima-se uma geração anual de 2 milhões de toneladas (PETRONI et al., 2016).

Este resíduo apresenta composição média de 70-75 % de carboidratos (amido),

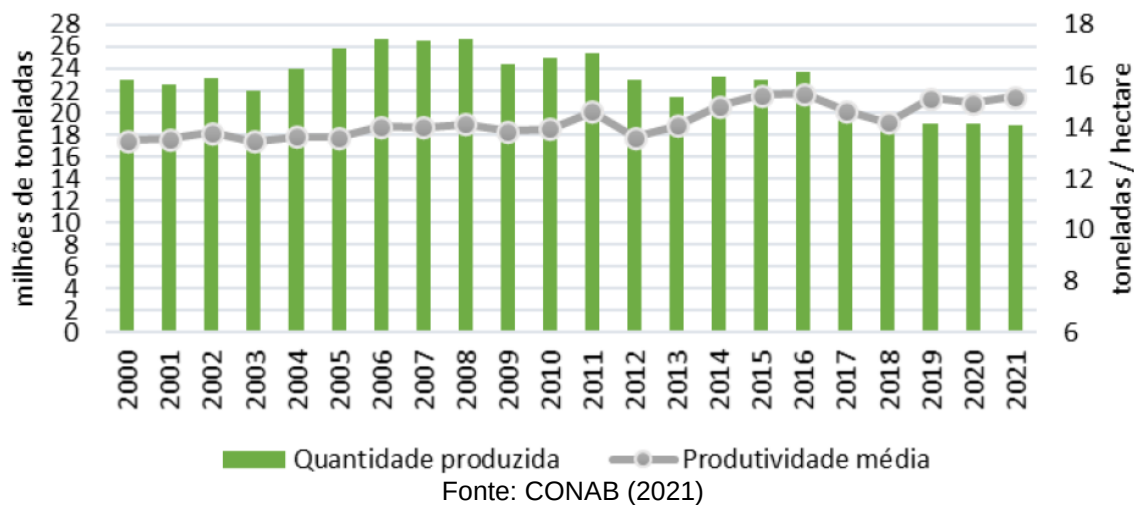
60-65 % de fibra bruta (11-26 % de celulose, 23-28 % de hemiceluloses e 22-29 % de lignina) 4-5 % de lipídeos e 13-26 % de proteínas (expressos em matéria seca) (MELLO, 2014; REINOLD, 1997; SANTOS et al., 2003a; STEINMACHER et al., 2012). Além dessas características estruturais, a alta disponibilidade e o baixo custo incentivam a investigação aprofundada de aplicações e aproveitamento desse resíduo.

3.4.2 Indústria farinheira e fecularia e a produção de bagaço de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma cultura perene e arbustiva pertencente à família *Euphorbiaceae*, originária da América do Sul, porém mais de 80 países a cultivam, sendo que o Brasil é responsável por aproximadamente 15% da produção mundial (EMBRAPA, 2021). Esta cultura de raiz tem um teor de amido de até 90% (peso seco), desenvolvendo-se até mesmo em terras inférteis e com o mínimo de insumos químicos, tornando-a uma das matérias-primas agrícolas mais baratas e sustentáveis (TAPPIBAN et al., 2019; ZHANG et al., 2016a). A maior produção ocorre em climas tropicais (70%), onde durante os últimos anos, os cinco países com a maior produção de mandioca foram Nigéria, Tailândia, Brasil, Congo e Gana (FAO, 2022a).

A estimativa de produção brasileira de raiz de mandioca para o ano de 2021, de acordo com a última atualização do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE (janeiro/2020), é de 18,80 milhões de toneladas, colhidas em uma área de 1,24 milhão de hectares. Se comparada a 2020, cuja produção foi de 18,96 milhões de toneladas, os dados apontam para um aumento de 0,80%. Houve uma redução de 1,69% na área plantada, levando a produtividade ao patamar de 15,21 t/h, frente à 14,95 t/h em 2020, redução de 2,5% (CONAB, 2021).

Os produtores reduziram a área de plantio, a tecnologia de produção aplicada e a área colhida, deixando as plantas por mais tempo no campo, acumulando reservas e aguardando melhores condições de mercado (Figura 11). As maiores produções foram nas regiões nordeste, norte e sul (CONAB, 2021). A mandioca é classificada como a terceira fonte de carboidrato mais essencial para consumo humano, cerca de 60% da produção mundial é consumida tanto *in natura* quanto processada, em forma de farinha, polvilho ou fécula (CEREDA, 2001; REINHARDT, NEBAMBI, GRAEME, 2013; ZHANG et al., 2016).

Figura 11. Evolução da produção de raiz de mandioca no Brasil.

Com o processamento industrial da mandioca, ocorre elevada geração de resíduos, sendo este denominado bagaço, farelo ou massa (TRAVALINI, 2015; ZHANG et al., 2016). Este resíduo é gerado durante a separação da farinha e do amido da mandioca. Isso envolve várias etapas: descascamento e lavagem, ralação, prensagem, desintegração, peneiração, secagem, moagem e peneiramento. Em geral, existem quatro categorias de fluxos de resíduos: cascas de processamento inicial, subprodutos fibrosos de esmagamento e peneiramento, resíduos de amido após sedimentação de amido e efluentes de águas residuárias. O resíduo sólido do processamento de amido de mandioca e farinha é denominado bagaço, enquanto as águas residuárias são chamadas de manipueira (LEONEL; CEREDA, 1999; MAIEVES et al., 2011; ZHANG et al., 2016).

A composição média do resíduo sólido é de 56-60 % de amido, 15-18 % de celulose, 4-5 % de hemicelulose, 2-3 % de lignina, 1,5-2,0 % de proteína, 0,4-0,5 % de açúcares redutores, 2 % de pentosanas e 0,83 % de lipídeos (expressos em matéria seca) (CEREDA, 2001; DIVYA; PADMAJA; MOORTHY, 2011). A quantidade de bagaço gerada é extremamente alta, onde para cada tonelada de mandioca processada são produzidos aproximadamente 930 kg de farelo com 85 % de umidade (ou 250 kg de bagaço seco) (LEONEL, 2001; LEONEL; SOUZA; MISCHAN, 2010).

Devido à disponibilidade abundante e de baixo custo, a mandioca tornou-se uma das mais importantes fontes de amido para o bioetanol e outras produções de base biológica em regiões tropicais e subtropicais. Já o bagaço gerado, considerando o baixo teor de proteína, não é atraente como alimento para animais. Por isso, esses resíduos podem ser biologicamente e/ou quimicamente convertidos em vários

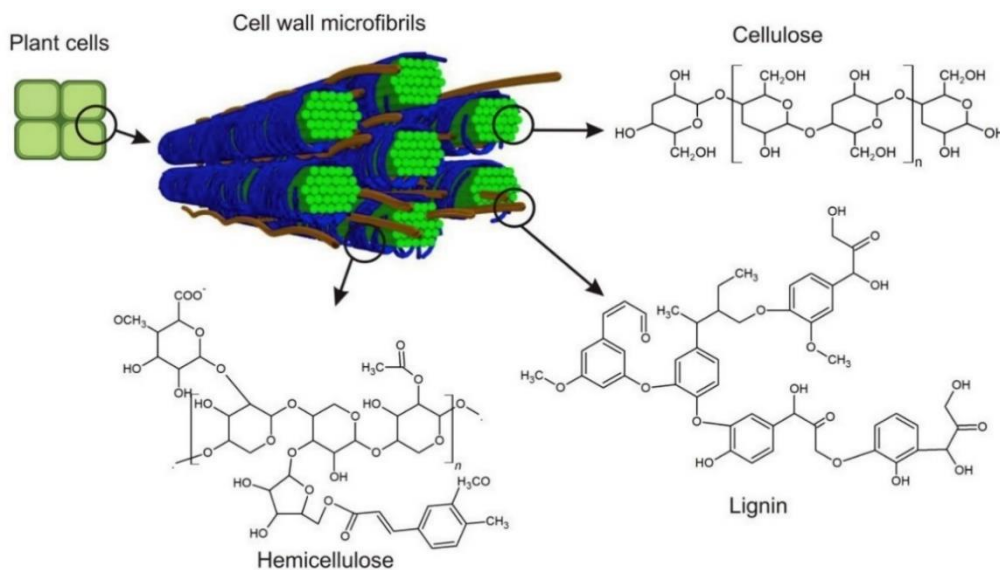
produtos de alto valor para maximizar a utilização efetiva dessa importante fonte biológica.

3.5 Características e pré-tratamentos do resíduo lignocelulósico

O desenvolvimento de processos industriais sustentáveis baseados na valorização de resíduos alimentares, geralmente depende do refinamento do recurso original, pois sua forma natural possui limitações e pouca aplicação. Por isso, o refinamento começa com o pré-tratamento e a extração de componentes (por exemplo, proteínas, lipídios e compostos bioativos). Além de ser usado para extrair compostos valiosos, a conversão química e o bioprocessamento podem ser aplicados para produzir produtos de base biológica, como produtos químicos, polímeros, materiais, fertilizantes, combustíveis e energia (BALAT, 2011; MORONE et al., 2019; ZHANG et al., 2016). Dentro deste contexto, a origem do resíduo, fonte botânica, composição química e estrutural pode influenciar diretamente na escolha do pré-tratamento adequado para a utilização eficiente desse material lignocelulósico.

Estruturalmente, os materiais lignocelulósicos são muito complexos. Os principais componentes dessa biomassa são celulose (30-35%), hemicelulose (25-30%) e lignina (10-20%). Além disso, contém proteínas, lipídios, água e outros itens (AGREGÁN et al., 2017; BALAT, 2011). Polímeros celulósicos e hemicelulósicos constituem aproximadamente 70% de toda a biomassa e estão ligados pela lignina (Figura 12), por meio de uma variedade de ligações covalentes que conferem robustez significativa e resistência ao tratamento brando (KUMAR; SHARMA, 2017; PRASAD et al., 2019; RAUD et al., 2019).

Figura 12. Estrutura lignocelulósica (celulose, hemicelulose e lignina).



Fonte: Raud et al., (2019)

3.5.1 Celulose

A celulose ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) é o polissacarídeo de cadeia linear mais abundante da célula vegetal (RAUD et al., 2019). O grau de polimerização da celulose varia dependendo da fonte (entre 100 e 15.000), e cada microfibrila de celulose é composta de 36 cadeias paralelas de celulose, sendo fortemente ligadas por ligações de hidrogênio intramoleculares e intermoleculares extensas de vários grupos hidroxila, formando microfibrilas que tornam as moléculas de celulose mais resistentes e rígidas. Esta estrutura da celulose resulta em forma compacta e alta cristalinidade, o que, por sua vez, causa insolubilidade do polímero de celulose à água e resistência à despolimerização (RAUD et al., 2019; ZABED et al., 2017).

Embora os materiais ricos em amido precisem de temperaturas de apenas 60-70 °C para serem convertidas da textura cristalina para amorfa, a celulose requer 320 °C, assim como uma pressão de 25 MPa para mudar de uma estrutura cristalina rígida para uma estrutura amorfa em água. Na hidrólise, o polissacarídeo é decomposto em moléculas livres de açúcar pela adição de água. Este processo também é conhecido como sacarificação. O produto, a glicose, é um açúcar de seis carbonos. A celulose é o principal componente da biomassa vegetal (30 a 60% da matéria seca total da matéria-prima) (PRASAD et al., 2019).

3.5.2 Hemicelulose

Hemiceluloses ($C_5H_8O_4$) são um grupo de polissacarídeos localizados em paredes celulares secundárias, que interagem com celulose e lignina (SORIEUL et al., 2016). São biopolímeros amorfos ramificados e heterogêneos de pentoses (xilose, arabinose), hexoses (manose, glicose, galactose) e açúcares acetilados. Devido ao seu baixo peso molecular e estrutura ramificada com cadeias laterais curtas, as hemiceluloses são facilmente hidrolisadas (CHEN, 2014).

As hemiceluloses se ligam a microfibras de celulose via ligações de hidrogênio, cobrindo-as e, assim, formam uma rede que fornece o esqueleto estrutural para a parede celular da planta. Tem sido proposto que, para aumentar significativamente a digestibilidade da celulose e a eficiência de conversão, pelo menos 50% da hemicelulose deve ser removida com o pré-tratamento (AGBOR et al., 2011). É o segundo polímero mais abundante em biomassa (20% a 40% da matéria seca da matéria-prima total), e a porcentagem varia de acordo com a fonte botânica (CHEN, 2014).

3.5.3 Lignina

A lignina [$C_9H_{10}O_3(OCH_3)_{0.9-1.7}$] é um biopolímero aromático e rígido com um peso molecular de 10.000 Da, formado por ligações covalentes a xilanos (porção de hemicelulose), que confere rigidez e elevado nível de compactação à parede celular da planta (DE GONZALO et al., 2016). É composta por três monômeros fenólicos do álcool fenilpropiônico, o álcool cumaril, coniferil e sinapil (LIMAYEM; RICKE, 2012). As cascas de madeira têm o nível mais alto de lignina (30–60%), enquanto resíduos agrícolas contêm o nível mais baixo (3–15%). A lignina forma uma rede tridimensional, na qual fibras de celulose e hemicelulose são embutidas e, portanto, a lignina é geralmente aceita como a “cola” que une os diferentes componentes da biomassa lignocelulósica (celulose e hemicelulose). Esta estrutura fornece suporte estrutural, reforço mecânico, impermeabilização e barreira à digestão enzimática para biomassa. Em comparação com a celulose e outros polissacarídeos estruturais, a lignina é mais resistente ao ataque biológico (HAGHIGHI MOOD et al., 2013; RAUD et al., 2019).

A lignina é uma das desvantagens do uso de materiais de biomassa lignocelulósica na fermentação, pois torna a lignocelulose resistente à degradação

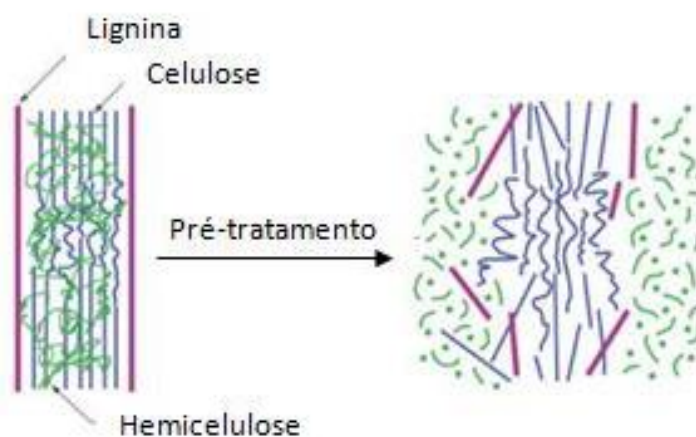
química e biológica (BALAT, 2011).

3.6 Tipos de pré-tratamentos do resíduo lignocelulósico

Os métodos de pré-tratamento se referem à solubilização e a separação de um ou mais componentes da biomassa (bagaço) (DE GONZALO et al., 2016; PRASAD et al., 2019; SAINI; SAINI; TEWARI, 2015).

Devido à natureza cristalina da celulose, à barreira física formada por ligninas ao redor das fibras celulósicas e a presença de complexas interações entre hemicelulose e celulose presentes nas paredes celulares dos vegetais e entre estes polissacarídeos e ligninas, o pré-tratamento desse material representa uma etapa imprescindível na rota de produção, pois objetiva separar a matriz de lignina, reduzir a cristalinidade da celulose, aumentar a fração amorfa da mesma e solubilizar a hemicelulose, separando o hidrolisado da celulose para que o mesmo fique mais acessível às hidrólises biológicas e químicas (Figura 13) (DEMIRBAS, 2005; SARKAR et al., 2012).

Figura 13. Reação do pré-tratamento em material lignocelulósico.



Fonte: Balat (2011) (adaptado)

Para ser considerado eficaz, o pré-tratamento deve diminuir o grau de polimerização das moléculas de celulose, de forma que se tornem acessíveis ao processo de hidrólise, evitar formação de subprodutos inibidores dos processos de hidrólise e fermentação e, principalmente, ser economicamente viável. Atualmente existem diversos métodos de pré-tratamento, que podem ser físicos (moagem e trituração), químicos (álcali, ácido diluído, agentes oxidantes e solventes orgânicos)

ou físico-químicos (explosão a vapor/auto-hidrólise, hidrotermólise e oxidação úmida) (FURUSATO et al., 2018; RAUD et al., 2019; SAINI; SAINI; TEWARI, 2015)

No entanto, nem todos esses métodos foram desenvolvidos o suficiente para serem viáveis tecnicamente ou economicamente para processos de larga escala. Vantagens e desvantagens (RAUD et al., 2019) de vários processos de pré-tratamento para materiais lignocelulósicos estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3. Comparação de diferentes métodos de pré-tratamento.

Método	Efeito	Vantagens	Desvantagens
Biológico			
Microbiana	Degradação de componentes de lignocelulose	Baixo consumo de energia, ambientalmente correto, sem inibidores	Baixa taxa de hidrólise e eficiência
Fungo	Degradação de lignina	Baixo consumo de energia e produtos químicos, ecologicamente correto, sem inibidores	Baixa taxa de hidrólise e eficiência
Químico			
Ácido (ácido sulfúrico, clorídrico, nítrico)	A dissolução da hemicelulose, diminui a polimerização da celulose	Alto rendimento de açúcares, alta remoção de hemicelulose	corrosão, formação de inibidores, ácidos concentrados hidrolisam polímeros a açúcares
Alcalina (hidróxido de sódio, cal)	Dissolução de lignina e uma parte da hemicelulose, diminui o grau de polimerização, aumento da área superficial	Operado a temperaturas mais baixas, não requer reatores complexos	Tempo de residência pode ser muito longo, a formação de sais, pode ser caro devido a produtos químicos
Organosolv	Fracionamento e dissolução da biomassa, especialmente lignina	Alta eficiência de extração, recuperação de solventes relativamente fácil	Alto custo, necessidade de recuperação de solventes, inflamabilidade, volatilidade de solventes, baixo ponto de ebulição dos solventes
Líquidos iônicos	Dissolução seletiva de componentes de biomassa	Altamente eficazes, condições de processo suaves, produtos químicos estáveis e não voláteis	Alto preço de IL, IL pode ser tóxico para enzimas, regeneração química necessária
Física			
Fragmentação (moagem, extrusão)	Diminuir o tamanho das partículas, o grau de polimerização e a cristalinidade	Nenhuma formação de compostos tóxicos	Alta energia de entrada
Irradiação (micro-ondas)	Remoção de lignina e hemicelulose	Tempo de processo curto e baixa demanda de energia, alta uniformidade	não está pronto para ser usado em escala industrial
Congelamento	Destruição da estrutura celular	Barato em áreas nórdicas	Baixa eficiência
Físico-químico			
Água quente	Solubilização de hemicelulose	formação mínima de inibidor, utiliza temperaturas mais baixas, baixo custo de solventes	Demanda de alta energia, envolve grandes volumes de água
Explosão de vapor	Destruição da biomassa na descompressão e dissolução da hemicelulose	Altamente eficaz, livre de produtos químicos	As instalações não permitem o processamento de grandes volumes Incompleta degradação de lignina, a produção de subprodutos tóxicos
AFEX	Reduz a fração de lignina	Remoção de lignina, produção de não / menos inibidor e aumento da área de superfície	Ineficiência para a biomassa com alto teor de lignina e a necessidade de alta pressão, a reciclagem de amônia é cara
Explosão de CO ₂	Destruição da biomassa na descompressão e dissolução da hemicelulose	Quase sem componentes inibitórios, utiliza temperaturas mais baixas, baixo custo de CO ₂	Alto custo do equipamento

Fonte: Raud, et al., (2019) (adaptada)

3.6.1 Pré-tratamento mecânico

Os materiais lignocelulósicos podem ser submetidos ao processo de moagem para reduzir a cristalinidade da celulose. Pode-se realizar a moagem úmida, a seco, vibratória e moagem por compressão (DEMIRBAŞ, 2005; SARKAR et al., 2012). A eficiência da moagem, escolha do moinho e potência mecânica dependem do diâmetro das partículas desejado para a utilização do material (BALAT, 2011). O moinho de facas e moinho de bolas são amplamente utilizados em escala laboratorial e industrial. Esta técnica de pré-tratamento mecânico consome tempo, energia ou são dispendiosas de processar (BALAT, 2011; RAUD et al., 2019).

Os pré-tratamentos destinados à redução do tamanho são muito frequentemente utilizados em combinação com outros métodos de pré-tratamento como um primeiro passo no processo de pré-tratamento como um todo (RAUD et al., 2019).

3.6.2 Pré-tratamento físico

A pressão a vapor é o método mais comumente utilizado para o pré-tratamento de materiais lignocelulósicos (BALAT, 2011). Esse método visa aumentar a cristalinidade da celulose, promovendo a cristalização das porções amorfas, hidrolisar parcialmente a hemicelulose e facilitar a deslignificação (JAHNAVI et al., 2017). Para tanto, a biomassa é tratada com vapor saturado de alta pressão e, em seguida, a pressão é rapidamente reduzida, o que faz com que os materiais sofram uma decomposição explosiva (SARKAR et al., 2012; ZABED et al., 2017). Em escala laboratorial, geralmente o experimento é realizado em autoclave.

Comparada com outros métodos de pré-tratamento, oferece potencial para menor investimento, impacto ambiental significativamente menor, maior potencial para eficiência energética, menos produtos químicos e completa recuperação de açúcar. Os métodos mecânicos convencionais requerem 70% mais energia do que a pressão a vapor para alcançar a mesma redução de tamanho (LIMAYEM; RICKE, 2012; NAGARAJAN; LEE; CHANG, 2019). O tamanho das partículas, temperatura e tempo de permanência afetam a eficiência do processo. A adição de H_2SO_4 pode

diminuir o tempo e a temperatura de reação, efetivamente melhorar a hidrólise, e levar à remoção completa da hemicelulose (BALAT, 2011; RAUD et al., 2019).

3.6.3 Pré-tratamento químico

Nos métodos de pré-tratamento químico, diferentes produtos, como ácidos, agentes alcalinos, solventes orgânicos e líquidos iônicos são usados para decompor os componentes da biomassa. A característica mais importante desses métodos é que isolam seletiva e eficientemente os diferentes componentes da lignocelulose (CHEN, 2014; LIMAYEM; RICKE, 2012).

O tratamento é usado para quebrar as ligações internas de lignina e hemicelulose, o que leva ao aumento da área de superfície e fibras de celulose mais acessíveis. Dependendo dos parâmetros operacionais, como temperatura, tempo, razão de catalisador e líquido para biomassa, a hemicelulose e a lignina podem ser dissolvidas em solução e a polpa de celulose altamente purificada podem ser obtidos (BALAT, 2011; RAUD et al., 2019).

3.6.3.1 Hidrólise ácida

Os pré-tratamentos ácidos objetivam a hidrólise dos componentes hemicelulose para produzir um xarope de açúcares monoméricos, a exposição de celulose para posteriores modificações da biomassa por remoção de hemicelulose e parte da lignina, e a solubilização dos metais pesados que podem ser contaminantes da matéria-prima (BALAT, 2011; RAUD et al., 2019). O ácido sulfúrico é o mais utilizado entre vários tipos de ácido, como clorídrico, nítrico e fosfórico. O pré-tratamento ácido pode operar sob alta temperatura e baixa concentração de ácido (pré-tratamento com ácido diluído) ou sob baixa temperatura e alta concentração de ácido (pré-tratamento ácido concentrado) (BALAT, 2011; SARKAR et al., 2012).

O principal desafio para os processos diluídos de hidrólise ácida é aumentar os rendimentos de glicose em mais de 70% em um processo industrial economicamente viável, mantendo uma alta taxa de hidrólise da celulose e minimizando a decomposição da glicose (ZABED et al., 2017). Já a hidrólise ácida concentrada leva a uma pequena degradação do açúcar e resulta um rendimento

de açúcar próximo de 100%. O processo de ácido concentrado oferece mais potencial para reduções de custo do que o processo de ácido diluído. No entanto, os problemas ambientais e de corrosão e o alto custo do consumo de ácido e recuperação apresentam grandes barreiras ao sucesso econômico (JAHNAVI et al., 2017; RAUD et al., 2019). Durante o pré-tratamento ácido em condições suaves, alguma parte da celulose amorfa é solubilizada e a porosidade do resíduo é aumentada. O aumento da cristalinidade e recristalização pode ocorrer durante o tratamento com ácido sob condições severas (CHEN, 2014).

Vários fatores, como relação sólido-líquido, temperatura, tempo de reação, tipo e concentração de ácido, afetam fortemente a hidrólise ácida. A liberação de açúcares redutores durante a hidrólise ácida depende do tipo e composição do material lignocelulósico e dos reatores utilizados nesse processo (JAHNAVI et al., 2017). Para atingir a recuperação máxima de açúcar e minimizar a concentração de inibidores liberados durante a hidrólise ácida, a otimização dos fatores citados acima é essencial. A escolha da concentração de ácido depende do objetivo do pré-tratamento, pois a biomassa pode ser preservada (estrutura da celulose) para posteriores modificações e aplicações e o líquido hidrolisado pode ser usado para realizar a fermentação e produzir etanol de segunda geração.

3.6.3.2 *Hidrólise alcalina*

Enquanto o pré-tratamento ácido promove a hidrólise da fração hemicelulósica, o pré-tratamento alcalino, também chamado de hidrólise alcalina, é empregado visando, principalmente, a remoção da lignina, levando à destruição da estrutura lignocelulósica e à separação das ligações entre lignina e carboidratos, o que reduz os graus de polimerização e cristalinidade e aumenta a porosidade das matérias-primas lignocelulósicas (CHEN, 2014; ZABED et al., 2017). Esses processos utilizam temperaturas e pressões mais baixas em comparação com outras tecnologias de pré-tratamento. O pré-tratamento de álcali pode ser realizado em condições ambientes, mas o tempo de pré-tratamento é medido em termos de horas ou dias, em vez de minutos ou segundos. A homogeneização do tratamento pode aumentar a eficiência (RAUD et al., 2019).

Os produtos químicos utilizados são hidróxido de sódio, potássio, cálcio e amônio. Destes quatro, o NaOH diluído é o mais empregado (JAHNAVI et al.,

2017).

Em matérias-primas ricas em proteína, o tratamento alcalino também pode ser aplicado, causando modificações na estrutura, estabilidade e propriedades funcionais. A carga de uma molécula de proteína é devido à ionização dos grupos funcionais de aminoácidos. Portanto, a força iônica de um solvente afeta o grau de dissociação desses grupos, alterando a carga da proteína e, conseqüentemente, a sua solubilidade. O efeito desse processo na solubilização depende da concentração da solução e o pH da reação (FENNEMA, 1996).

3.6.4 Pré-tratamentos combinados

Uma série de fatores afetam os processos de pré-tratamento, como pH, temperatura, tempo de tratamento, concentração de substrato e os agentes usados para o pré-tratamento (DAVE et al., 2019).

A seleção do método de pré-tratamento é feita considerando-se a eficiência da deslignificação e da remoção da hemicelulose, baixas perdas de açúcar, economia de tempo, questões econômicas e impacto ambiental. No entanto, um único método de pré-tratamento nem sempre é eficaz e, portanto, a combinação de diferentes métodos de pré-tratamento tem sido amplamente utilizada (BALAT, 2011; CHEN, 2014; MORONE et al., 2019; ZABED et al., 2017). Desta forma, as vantagens de diferentes métodos de pré-tratamento são combinadas e, assim, a eficiência global melhorada do processo pode ser alcançada. Por isso, a escolha de um método adequado depende das características da biomassa e das etapas subsequentes do processamento.

3.7 Modificações químicas

Vários fatores contribuem para obtenção de características específicas da fibra lignocelulósica, como a fonte botânica da qual é extraída, modo de extração e pré-tratamentos utilizados. É de extrema importância um melhor aproveitamento tecnológico destes compósitos, que possuem alta concentração de celulose em sua composição, podendo atuar como substrato para processos biotecnológicos na produção de metabólitos com valor comercial (WOICIECHOWSKI; NITSCHKE; PANDEY; SOCCOL, 2002). Para atender a demanda de características reológicas

específicas de novas aplicações, os materiais lignocelulósicos de diferentes fontes são submetidos a modificações, por exemplo por processos químicos (oxidação, fosfatação, acetilação, succinilação, intercruzamento de ligações) (GUPTA et al., 2019; TRAVALINI, 2015), para que este apresente propriedades e/ou características desejadas em aplicações específicas (KAUR et al., 2012).

A modificação química aumenta a adesão interfacial dos compósitos, melhorando algumas das suas propriedades mecânicas. Os mecanismos de adesão podem ser divididos em mecânico, eletrostático, químico, adsorção e interdifusão. A adesão mecânica ocorre a partir do preenchimento da matriz com o material de reforço, a atração eletrostática acontece quando as duas superfícies apresentam cargas elétricas opostas, enquanto que a ligação química ocorre com a aplicação de agentes de acoplamento na superfície da carga. A adesão por adsorção ou molhamento ocorre quando o material polimérico recobre a superfície da carga e interdifusão consiste na formação de ligações entre as superfícies da matriz e da fibra (TRAVALINI, 2015). Algumas modificações podem resultar em um material negativamente carregado (LI et al., 2009) e essa carga negativa é capaz de reagir com proteínas através das ligações eletrostáticas (LI et al., 2012).

3.7.1 Oxidação

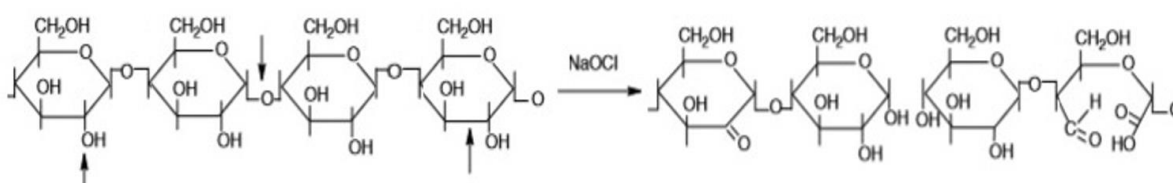
A oxidação é um processo químico onde os grupos funcionais carboxila e carbonila podem ser introduzidos nas cadeias de celulose a partir da oxidação dos grupos hidroxilas (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010). A oxidação da celulose ocorre por ação de um agente oxidante sobre condições controladas de pH e temperatura (DIAS et al., 2011; GUPTA et al., 2019; MARTINS et al., 2017; WANG; WANG, 2003). Durante a oxidação, os grupos hidroxilas das moléculas de celulose são oxidados a grupos carbonílicos (C=O) e carboxílicos (COOH), principalmente em C-2, C-3 e C-6 (KUAKPETOON; WANG, 2001; WANG; WANG, 2003) (Figura 14). A oxidação também ocasiona o rompimento das ligações D-glucana β -1,4 causando a despolimerização da molécula (WURZBURG, 1986).

A oxidação pode ocorrer a partir de diversos agentes oxidantes como hipoclorito de sódio (DIAS et al., 2011; GUPTA et al., 2019; KUAKPETOON; WANG, 2001; WANG; WANG, 2003), peróxido de hidrogênio (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010), ozônio (KLEIN et al., 2014) e bissulfito de

sódio (MUNIZ DAS NEVES et al., 2010), entretanto, a oxidação comercial para aplicações em alimentos emprega principalmente hipoclorito de sódio (BEMILLER, 2019).

Dependendo do agente oxidante e das condições da reação, podem ser gerados preferencialmente grupos carboxila ou carbonila. Em condições ótimas de reação, o hipoclorito introduz mais grupos carboxílicos enquanto o peróxido introduz grupos carbonílicos (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010), sendo característica marcante dos compostos oxidados o seu caráter aniônico (YING et al., 2019). Baseado nisso, por possuírem cargas negativas acredita-se que os grupamentos carboxílicos formados durante a oxidação podem reagir com alguns aminoácidos das proteínas, formando pontes salinas promovendo sua precipitação.

Figura 14. Oxidação da celulose e a formação de grupos carbonilas e carboxilas.



Fonte: Modificado de Sherry et al., (2005).

3.7.2 Fosfatação

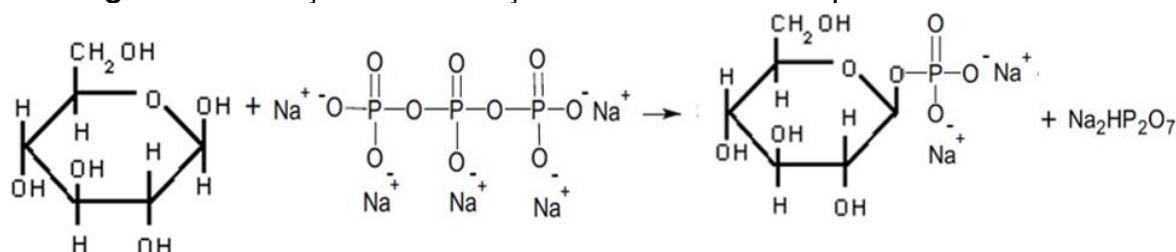
Os principais reagentes utilizados na fosfatação são o trimetafosfato de sódio (STMP), fosfato monossódico (SOP), tripolifosfato de sódio (STPP), epicloridrina (EPI), cloreto de fosforila (POCl_3). As propriedades funcionais dos compósitos modificados dependem grandemente do polímero de resina depositado do grupo funcional, pois os reagentes têm diferentes condições de reação ótimas. Devido à natureza não-tóxica e ao baixo custo, tripolifosfato de sódio (STPP, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) é o mais utilizado na indústria alimentícia (CHEN; KAUR; SINGH, 2017; MAO; IMTIAZ; ZHANG, 2015).

A reação com tripolifosfato de sódio acontece por meio de esterificação e pode ocorrer em qualquer oxidrila, causando repulsão entre cadeias adjacentes e introduzindo dois grupos fosfato carregados negativamente (Figura 15) (CHEN; KAUR; SINGH, 2017). A modificação reduz as associações entre cadeias e facilita

a hidratação do meio. A presença de fósforo nas moléculas é um importante fator na variação das propriedades funcionais (KARIM et al., 2007). O processo de fosfatação também pode formar ligações cruzadas, que deixam a estrutura macromolecular mais rígida no interior do grânulo. Essas ligações substituem as ligações de hidrogênio por ligações mais fortes e permanentes (covalentes), onde retardam a velocidade de absorção de água, intumescem e reduzem a sensibilidade do grânulo intumescido à ruptura (NABESHIMA; EL-DASH, 2004; WURZBURG, 1986)

Além disso, as propriedades químicas e funcionais conseguidas dependem da fonte botânica submetidas a modificação, condições da reação (concentração de reagente, tempo de reação, pH, presença de catalisador), tipo de substituição e a distribuição do substituinte na molécula para determinar o número de grupos fosfato incorporados a molécula (CHEN; KAUR; SINGH, 2017; MAO; IMTIAZ; ZHANG, 2015). A fosfatação é geralmente realizada por reação de calor seco na faixa de temperatura de 130 a 160 °C (BEMILLER, 2019; CHEN; KAUR; SINGH, 2017; MEICZINGER et al., 2005; PASSAUER; BENDER; FISCHER, 2010).

Figura 15. Reação de fosfatação da celulose com tripolifosfato de sódio.



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

A modificação por fosfatação é utilizada com mais frequência em amido e quitosana.

A quitosana é um biopolímero natural catiônico de glucosamina e N-acetil glucosamina composto por ligações glicosídicas β 1-4 obtidas por N-desacetilação de quitina. O peso molecular e o grau de desacetilação podem ser modificados durante sua preparação para obter propriedades. A quitosana contém grupos livres de $-\text{NH}_2$ e $-\text{OH}$, que proporcionam maior solubilidade e reatividade, que podem ser modificados para obter diferentes aplicações. É solúvel em condição ácida devido à protonação de seus grupos amino ($-\text{NH}_3^+$) (pKa 6,5), por isso se comporta como um poli-cátion e pode favorecer interações eletrostáticas. Na reticulação, os

grupos disponíveis $-NH_2$ atuam como sítios ativos e são capazes de formar um número de ligações na estrutura de rede tridimensional. O tripolifosfato de sódio (STPP) é um poli-ânion não tóxico que pode interagir com grupos amino carregados positivamente de quitosana via forças eletrostáticas para formar redes reticuladas iônicas devido a suas altas cargas negativas líquidas (MAO; IMTIAZ; ZHANG, 2015; MULIA; ANDRIE; KRISANTI, 2018; NASUTION et al., 2018; PASSAUER; BENDER; FISCHER, 2010; RODRIGUES; COSTA; GRENHA, 2012)

O amido nativo tem baixa estabilidade e baixa resistência à tensão de cisalhamento, ao pH, a pressão e mudanças de temperatura durante processos tecnológicos bem como durante a estocagem do produto final. A modificação e introdução de grupos fosfatos substitui alguns grupos OH^- nas unidades de monomero de glicose com grupos funcionais carregados negativamente. Isso possibilita alterações físicas e reológicas do amido nativo como o aumento do poder de inchamento e da solubilização dos grânulos, redução da temperatura de gelatinização e aumento da claridade da pasta e da viscosidade do gel. As pastas de amido fosfatado são estáveis à armazenagem e frente aos ciclos de congelamento/descongelamento, possibilitando seu uso em produtos congelados ou enlatados (BEMILLER, 2019; CHEN; KAUR; SINGH, 2017; KARIM et al., 2007; MEICZINGER et al., 2005; NABESHIMA; EL-DASH, 2004; WURZBURG, 1986).

Sobre biomassas ricas em celulose não foram encontrados estudos. Entretanto, baseado nas reações que ocorrem no amido e quitosana, sugere-se que o mesmo comportamento pode ocorrer nas cadeias de celulose (características estruturais parecidas) e que o tripolifosfato pode modificar as oxidrilas e carregá-las negativamente.

Os compósitos modificados por adição de fósforo são considerados aditivos químicos em alimentos, portanto, a legislação preconiza níveis de fósforo não superiores há 0,4% (Codex Alimentarius – FAO) (FAO, 2022a).

3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOR, V. B. et al. Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 675–685, 2011.

AGREGÁN, R. et al. Assessment of the antioxidant activity of *Bifurcaria bifurcata* aqueous extract on canola oil. Effect of extract concentration on the oxidation stability and volatile compound generation during oil storage. **Food Research International**, v. 99, p. 1095–1102, 2017.

ALMEIDA E SILVA, J. . Matéria-prima e processamento. In: BLUCHER, E. (Ed.). **Tecnologia de Bebidas**. 2. ed. São Paulo - SP. p. 347-380. 2005.

- ANDERSON, H. E. et al. A Review of the Analytical Methods used for Beer Ingredient and Finished Product Analysis and Quality Control. **Analytica Chimica Acta**, p. 1–20, 2019.
- AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia Industrial**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher. 2001.
- BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v. 52, n. 2, p. 858–875, 2011.
- BAMFORTH, C. **Beer: Tap into the Art and Science of Brewing**. 2. ed. New York: Oxford University Press. 2003.
- BEMILLER, J. N. Corn Starch Modification. In: INC., E. (Ed.). **Corn (Third Edition)**. 3. ed. Elsevier Inc., 2019. p. 537-549. 2018.
- BERNARDI, G. DOS S. et al. Microfiltration for Filtration and Pasteurization of Beers. In: BEVERAGES, T. S. OF (Ed.). **Engineering Tools in the Beverage Industry**. 3. ed. Elsevier Inc., p. 405-434. 2019.
- BOAN, M.; COLLINI, D.; PEREZ, C. **Tecnologia Cervejeira**. Rio de Janeiro - RJ. 2014.
- BOGDAN, P.; KORDIALIK-BOGACKA, E. Alternatives to malt in brewing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 65, p. 1–9, 2017.
- BRASIL. **Decreto n. 2.314, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a lei Nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 6871, de 04 de junho de 2009. Diário Oficial da União, Brasília 05/06/2009.** MAPA, Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento, 2009.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 72, de 16 de novembro de 2018.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2019.
- BRASIL. **Instrução Normativa Nº 65, de 10 De Dezembro de 2019.** Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. 2019.
- BRIGGS, D. E. et al. **Brewing: science and practice**. 1. ed. New York: CRC Press, 2004.
- CEREDA, M. . Cerveja. In: EDGARD BLÜCHER (Ed.). **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. 5. ed. São Paulo: Edgard Blücher. 1985.
- CEREDA, M. P. **Manejo, uso e tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. 4. ed. São Paulo: Fundação Cargill, v. 4. 2001.
- CHEN, H. Biotechnology of lignocellulose: Theory and practice. **Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice**, p. 1–511, 2014.
- CHEN, Y. F.; KAUR, L.; SINGH, J. Chemical Modification of Starch. **Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition**, p. 283–321, 2017.
- CONAB. **Janeiro de 2021 quadro 1 – parâmetros de análise de mercado da raiz de mandioca e derivados - médias mensais**, 2021. Disponível em: <file:///C:/Users/Mariana/AppData/Local/Temp/Mandioca_AnaliseZMensal_Janeiro_Z2021.pdf>
- DADOBIER. **Processamento de cervejas**. 2019. Disponível em: <<http://www.dadobier.com.br/>>.
- DANERI-CASTRO, S. N.; SVENSSON, B.; ROBERTS, T. H. Barley germination: Spatio-temporal considerations for designing and interpreting “omics” experiments. **Journal of Cereal Science**, v. 70, p. 29–37, 2016.
- DAVE, N. et al. A critical review on production of bioethanol from macroalgal biomass. **Algal Research**, v. 42, 2019.
- DE GONZALO, G. et al. Bacterial enzymes involved in lignin degradation. **Journal of Biotechnology**, v. 236, p. 110–119, 2016.
- DEMIRBAŞ, A. Bioethanol from cellulosic materials: A renewable motor fuel from biomass. **Energy Sources**, v. 27, n. 4, p. 327–337, 2005.
- DIAS, A. R. G. et al. Pasting, expansion and textural properties of fermented cassava starch oxidised with sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 268–275, 2011.
- DIVYA, N. M. P.; PADMAJA, G.; MOORTHY, S. N. Biodegradation of cassava starch factory residue using a combination of cellulases, xylanases and hemicellulases. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 3,

p. 1211–1218, 2011.

EBLINGER, H. M. **Handbook of Brewing**. Hong Kong. 2006.

EMBRAPA. **Mandioca**. 2021. Disponível em: <<http://www.cnpmf.embrapa.br/>>.

EPA, U. S. E. P. A. **Clean water act analytical methods: method 310.2: alkalinity (colorimetric, automated, methyl orange) by autoanalyzer**. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/method_310-2_1974.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2019.

FAO. **Global Food Losses and Food Waste – Extent, Causes and Prevention**. Rome. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/i2697e/i2697e.pdf>>. Acesso em: 7 abr. 2022.

FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 5 fev. 2022.

FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3rd. ed. New York: Food Chemistry, 1996.

FIX, G. **Principles of Brewing Science: A Study of Serious Brewing Issues**. 2. ed. 1999.

FURUSATO, S. et al. Mechanochemical Decomposition of Crystalline Cellulose in the Presence of Protonated Layered Niobium Molybdate Solid Acid Catalyst. **ChemSusChem**, v. 11, n. 5, p. 888–896, 2018.

GAROFALO, P. et al. Environmental sustainability of agri-food supply chains in Italy: The case of the whole-peeled tomato production under life cycle assessment methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 200, p. 1–12, 2017.

GASSARA, F. et al. Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 80–85, 2015.

GIBSON, M.; NEWSHAM, P. Wine and Beer. **Food Science and the Culinary Arts**, p. 373–397, 2018.

GONZÁLEZ-CENTENO, M. R. et al. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 506–514, 2015.

GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L.; RODRÍGUEZ, P. M.; VALLS-BELLÉS, V. Beer and Its Role in Human Health. In: **Fermented Foods in Health and Disease Prevention**. Elsevier Inc., p. 365–384, 2016.

GUPTA, A. D. et al. Simultaneous oxidation and esterification of cellulose for use in treatment of water containing Cu(II) ions. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, n. January, p. 114964, 2019.

GUSTAVSSON, J.; STAGE, J. Retail waste of horticultural products in Sweden. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 55, n. 5, p. 554–556, 2011.

HAGHIGHI MOOD, S. et al. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 27, p. 77–93, 2013.

HARRISON, M. A. Beer/Brewing. **Encyclopedia of Microbiology**, n. September 2016, p. 23–33, 2009.

JAHNAVI, G. et al. Status of availability of lignocellulosic feed stocks in India: Biotechnological strategies involved in the production of Bioethanol. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 73, n. February, p. 798–820, 2017.

JAKUBOWSKI, M. et al. An assessment of the potential of shadow sizing analysis and Particle Image Velocimetry (PIV) to characterise hot “trub” morphology. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 34–41, 2016.

JUCHEN, P. T. et al. Biosorption of reactive blue BF-5G dye by malt bagasse: Kinetic and equilibrium studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 6, p. 7111–7118, 2018.

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

KARTHIKEYAN, V.; VENKATESH, K. R.; ARUTCHELVAN, V. A correlation study on physico-chemical characteristics of dairy wastewater. **International Journal of Engineering Science and Technology**, v. 7, p. 89–92, 2015.

KLEIN, B. et al. Ozone oxidation of cassava starch in aqueous solution at different pH. **Food Chemistry**, v. 155, p. 167–173, 2014.

KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Characterization of different starches oxidized by hypochlorite. **Starch/Staerke**, v. 53, n. 5, p. 211–218, 2001.

KUMAR, A. K.; SHARMA, S. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 4, n. 1, 2017.

LAŠTOVIČKOVÁ, M.; BOBÁLOVÁ, J. MS based proteomic approaches for analysis of barley malt. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 3, p. 519–530, 2012.

LEONEL, M. Caracterização da Fibra e Uso do Farelo de Mandioca como Base para Produtos Dietéticos. In: CEREDA, M. P. (Ed.). **Manejo, uso e tratamento de Subprodutos da Industrialização da Mandioca**. 4. ed. São Paulo: Fundação Cargill, p. 221–228, 2001.

LEONEL, M.; CEREDA, M. P. Melhoria do rendimento de hidrólise enzimática para produção de etanol a partir de farelo de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, n. 1,2, p. 111–118, 1999.

LEONEL, M.; SOUZA, L. B. DE; MISCHAN, M. M. Produção de snacks extrusados à base de polvilho doce e fibra de laranja. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1411–1417, 2010.

LI, Q.; WANG, J.; LIU, C. Beers. In: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Food and Beverages Industry**. p. 305–351, 2016.

LIMAYEM, A.; RICKE, S. C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, n. 4, p. 449–467, 2012.

MACLEOD, L.; EVANS, E. **Barley: Malting**. 2. ed. Elsevier Ltd., 2015. v. 3–4

MAIEVES, H. A. et al. Selection of cultivars for minimization of waste and of water consumption in cassava starch production. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 1, p. 224–228, 2011.

MAO, C.; IMTIAZ, S. A.; ZHANG, Y. Competitive adsorption of Ag (I) and Cu (II) by tripolyphosphate crosslinked chitosan beads. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 43, p. 1–11, 2015.

MAPA. **Anuário da cerveja 2020 - Ministério da Agricul**, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>>

MARCUSSO, E. F.; MÜLLER, C. V. **Anuário da cerveja no Brasil 2018: Crescimento e Inovação**, 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/pasta-publicacoes-DIPOV/anuario-da-cerveja-no-brasil-2018>>. Acesso em: 6 ago. 2019.

MARDEGAN, S. F. et al. Stable carbon isotopic composition of Brazilian beers—A comparison between large- and small-scale breweries. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 52–57, fev. 2013.

MARTINS, L. R. et al. Optimization of cellulose and sugarcane bagasse oxidation: Application for adsorptive removal of crystal violet and auramine-O from aqueous solution. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 494, p. 223–241, 2017.

MEICZINGER, M. et al. Investigation of reactions occurring at starch phosphorylation. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 25, p. 9581–9585, 2005.

MELLO, L. R. P. F. Use of malt bagasse to produce biodegradable baked foams made from cassava starch. **Industrial Crops & Products**, v. 55, p. 187–193, 2014.

MORADO, R. **Larousse da Cerveja**. 1. ed. São Paulo - SP: Lafonte. 2009.

MORONE, P. et al. Food waste: Challenges and opportunities for enhancing the emerging bio-economy. **Journal of Cleaner Production**, v. 221, p. 10–16, 2019.

MOUSIA, Z. et al. The effect of milling parameters on starch hydrolysis of milled malt in the brewing process. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 12, p. 2213–2219, 2004.

MULIA, K.; ANDRIE; KRISANTI, E. A. Effect of sodium tripolyphosphate concentration and simulated gastrointestinal fluids on release profile of paracetamol from chitosan microsphere. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 316, n. 1, 2018.

MUNIZ DAS NEVES, F. et al. Expansion of rice flour treated with lactic acid and sodium bisulphite. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 326–330, 2010.

- MUXEL, A. **Fundamentos de Fabricação de Cerveja** Florianópolis - SC, 2016.
- NABESHIMA, E. H.; EL-DASH, A. A. Modificação química da farinha de arroz como alternativa para o aproveitamento dos subprodutos do beneficiamento do arroz. **CEPPA**, v. 22, p. 107–120, 2004.
- NACHEL, M. **Praise for Homebrewing For Dummies**. 2. ed. Canadá: 2008.
- NAGARAJAN, D.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. Recent insights into consolidated bioprocessing for lignocellulosic biohydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 44, n. 28, p. 14362–14379, 2019.
- NASUTION, T. I. et al. Sodium tripolyphosphate cross-linked chitosan based sensor for enhancing sensing properties towards acetone. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 309, n. 1, 2018.
- NIU, C. et al. Malt derived proteins: Effect of protein Z on beer foam stability. **Food Bioscience**, v. 25, n. October 2017, p. 21–27, 2018.
- PALMER, J. **How to brew**. 3 rd ed. 2006.
- PALMER, J.; KAMINSKI, C. **Water: A Comprehensive Guide for Brewers**. Boulder, Colorado. 2013: Brewers Publications, 2013.
- PARKER, D. K. Beer: Production, sensory characteristics and sensory analysis. **Alcoholic Beverages: Sensory Evaluation and Consumer Research**, p. 133–158, 2011.
- PASCARI, X. et al. Mycotoxins and beer. Impact of beer production process on mycotoxin contamination. A review. **Food Research International**, v. 103, n. July 2017, p. 121–129, 2018.
- PASSAUER, L.; BENDER, H.; FISCHER, S. Synthesis and characterisation of starch phosphates. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 3, p. 809–814, 2010.
- PAVSLER, A.; BUIATTI, S. Lager Beer. **Beer in Health and Disease Prevention**, p. 31–43, 2010.
- PEDROSO, R. A.; DEMIATE, I. M. Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2007, n. 001738, p. 24–31, 2008.
- PETRONI, P. et al. CervBrasil - Associação Brasileira da indústria da cerveja. **CervBrasil**, p. 8, 2016.
- POREDA, A. et al. Effects of wort clarifying by using carrageenan on diatomaceous earth dosage for beer filtration. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, n. 4, p. 392–397, 2015.
- PRASAD, R. K. et al. Bioethanol production from waste lignocelluloses: A review on microbial degradation potential. **Chemosphere**, v. 231, p. 588–606, 2019.
- RAUD, M. et al. Potentials and challenges in lignocellulosic biofuel production technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 111, n. July 2018, p. 44–56, 2019.
- RAYMOND, A. **Handbook of Brewing**. Disponível em: <<http://weekly.cnbnews.com/news/article.html?no=124000>>. Acesso em: 5 maio. 2022.
- REINHARDT, H. NEBAMBI, L. GRAEME, T. **Save and Grow Cassava: A Guide to Sustainable Production Intensification**. 1. ed. Roma: 2013.
- REINOLD, M. R. **Manual prático de cervejaria**. São Paulo: 1997.
- RODRIGUES, S.; COSTA, A. M. R. DA; GRENHA, A. Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 1, p. 282–289, 2012.
- ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.
- SAINI, J. K.; SAINI, R.; TEWARI, L. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. **3 Biotech**, v. 5, n. 4, p. 337–353, 2015.
- SALURI, M.; ROBAL, M.; TUVIKENE, R. Hybrid carrageenans as beer wort fining agents. **Food Hydrocolloids**, v. 86, p. 26–33, 2019.
- SANGSEETHONG, K.; TERMVEJSAYANON, N.; SRIROTH, K. Characterization of physicochemical properties of hypochlorite- and peroxide-oxidized cassava starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n.

2, p. 446–453, 2010.

SANTOS, M. et al. Variability of brewer ' s spent grain within a brewery. **Food Chemistry**, v. 80, p. 17–21, 2003.

SARKAR, N. et al. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. **Renewable Energy**, v. 37, n. 1, p. 19–27, 2012.

SATYANARAYANA, K. G.; ARIZAGA, G. G. C.; WYPYCH, F. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers-An overview. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 9, p. 982–1021, 2009.

SCHUINA, G. L. **Utilização de plantas amargas em substituição ao lúpulo na produção de cerveja artesanal tipo american lager**. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Ibilce, 2018.

SHOPSKA, V. et al. Kinetic Characteristics of Alcohol Fermentation in Brewing: State of Art and Control of the Fermentation Process. In: **Fermented Beverages**. Elsevier Inc., 2019. p. 529–575.

SINDICERV. **Produção brasileira de cerveja**. Disponível em: <<https://www.sindicerv.com.br/o-setor-em-numeros/>>. Acesso em: 3 mar. 2022.

SORIEUL, M. et al. Plant fibre: Molecular structure and biomechanical properties, of a complex living material, influencing its deconstruction towards a biobased composite. **Materials**, v. 9, n. 8, p. 1–36, 2016.

STEINMACHER, N. C. et al. Bioconversion of brewer ' s spent grains by reactive extrusion and their application in bread-making. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 542–547, 2012.

STEWART, G. G. Saccharomyces: Brewer's Yeast. In: ELSEVIER (Ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. 2. ed. Elsevier, 2014. v. 3p. 302–308.

TAPPIBAN, P. et al. Recent understanding of starch biosynthesis in cassava for quality improvement: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 83, n. July 2018, p. 167–180, 2019.

TELES, J. A. **Estudo da produção de mosto concentrado lupulado a partir de extrato de malte**. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, 2007.

TRAVALINI, A. P. **Extração, modificação e aplicação da fibra do bagaço de mandioca (Manihot esculenta Crantz)**. Ponta Grossa - PR: Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, 2015.

VAN DER SMAN, R. G. M. et al. Review of hypotheses for fouling during beer clarification using membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 396, p. 22–31, 2012.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas**. 1. ed. São Paulo - SP. Blucher. 2010.

WANG, Y. J.; WANG, L. Physicochemical properties of common and waxy corn starches oxidized by different levels of sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 3, p. 207–217, 2003.

WARD, I. L. **Wort e beer clarification manual**. Disponível em: <https://bsgcrafbrewing.com/Resources%5CCraftBrewing%5CPDFs%5CBrewing_Processes_and_Techniques/WortandBeerFinningManual.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2019a.

WARD, I. L. **The Nature , Formation & Prevention of Beer Hazes**. Disponível em: <https://bsgcrafbrewing.com/Resources/CraftBrewing/PDFs/Brewing_Processes_and_Techniques/The_NatureBeerHazes.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2019b.

WILLOWS, R. D.; WORDEN, P.; MIRZAEI, M. **Barley Grain Proteomics**. Elsevier Inc., 2017.

WOICIECHOWSKI, A. L.; NITSCHKE, S.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Acid and Enzymatic Hydrolysis to Recover Reducing Sugars from cassava Bagasse: an Economic Study. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n. 6 2, p. 393–400, 2002.

WOLFE, E. et al. Guia de estudo para os exames de cerveja do bjcp. **Beer Judge Certification Program**, p. 79, 2012.

WUNDERLICH, S.; BACK, W. General Aspects of Beer and Constituents - Beer Making, Hops and Yeast. **Elsevier**, n. i, 2009.

WURZBURG, O. . Converted starches. **Modified starches: Properties and use**, n. CRC Press, Boca

Raton, p. 17–40, 1986.

YING, W. et al. The sequential Fenton oxidation and sulfomethylation pretreatment for alleviating the negative effects of lignin in enzymatic saccharification of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 286, n. April, p. 121392, 2019.

ZABED, H. et al. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, n. October 2015, p. 475–501, 2017.

ZHANG, M. et al. Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: Current status and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 215, p. 50–62, 2016.

ZHAO, H.; SUN-WATERHOUSE, D. **Interactions Between Proteins and Polyphenols in Beer**. Elsevier, 2018. v. 2

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

Capítulo II

4 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA FRAÇÃO FIBROSA DO BAGAÇO DE MALTE SUBMETIDO A TRATAMENTO ALCALINO E DO BAGAÇO DE MANDIOCA SUBMETIDO A TRATAMENTO ÁCIDO

4.1 Resumo

A indústria de alimentos e bebidas enfrenta desafios quando se trata da destinação dos resíduos produzidos. Para cervejarias e fecularias, tem-se elevada geração de bagaço de malte e de mandioca, respectivamente. Ambos apresentam elevada concentração de fibras, possibilitando a valorização do material e consequente agregação de valor, se devidamente tratados. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os bagaços de malte (MN) e mandioca (CN), hidrolisá-los quimicamente obtendo a fração fibrosa, caracterizá-las, e analisar a eficiência do tratamento alcalino no bagaço de malte (MT) e do tratamento ácido no bagaço de mandioca (CT). Os bagaços nativos e tratados foram caracterizados por meio de análises físico-químicas, granulométricas, colorimétricas, térmicas e cristalinas. Os tratamentos alcalino e ácido demonstraram ser eficientes quanto ao aumento na concentração de fibras e redução de outros componentes como proteínas e amido. Verificou-se que a moagem para a obtenção de uma granulometria fina é favorecida nas amostras tratadas. A cor, assim como as propriedades térmicas e cristalinas, também foram influenciadas nas amostras tratadas, onde observou-se que lignina e hemicelulose foram parcialmente removidas. A caracterização dos bagaços comprovou que os tratamentos aplicados evidenciaram a concentração de celulose naturalmente presente nos bagaços.

Palavras-chave: modificação química, fibra, celulose, resíduo agroindustrial, hidrólise.

4.2 Abstract

The food and beverage industry faces challenges when it comes to the disposal of waste produced. Breweries and starch factories have a high generation of malt and cassava bagasse, respectively. Both have a high concentration of fibers, allowing

for the material to be valued and consequent aggregation of value, if properly treated. The objective of this work was to characterize malt bagasse (MN) and cassava bagasse (CN), hydrolyze them chemically to obtain treated fibrous fractions, characterize them, and analyze the efficiency of alkaline treatment in malt bagasse (MT) and acid treatment in cassava bagasse (CT). The native and treated bagasse were evaluated through physicochemical, granulometric, colorimetric, thermal, and crystalline analysis. Both treatments (alkaline and acid) demonstrated being efficient in terms of increasing fiber concentration and reducing other components such as proteins and starch. It was found that milling to obtain a fine granulometry is favored in the treated samples. As well as the color, the thermal and crystalline properties were also influenced in the treated samples, where it was observed that lignin and hemicellulose were partially removed. The characterization of the bagasse proved that the treatments applied evidenced the concentration of cellulose naturally present in the bagasse.

Keywords: chemical modification, fiber, cellulose, agro-industrial residue, hydrolysis.

4.3 Introdução

A produção industrial de alimentos e bebidas pertence a um sistema altamente globalizado, que tem apresentado uma exponencial evolução, devido à crescente necessidade de consumo. Diversos estudos apontam que a produção sustentável de alimentos já foi atingida e que a humanidade está utilizando 20% a mais de recursos naturais do que o planeta é capaz de repor, lembrando que a população mundial deverá aumentar de 7,7 bilhões em 2018 para 9,7 bilhões em 2050 (DAWSON et al., 2019; VANDERMEER et al., 2018). A possibilidade do esgotamento das fontes naturais incentiva a busca por novas alternativas e o desenvolvimento de soluções mais efetivas. Outra questão de significativa relevância são as consequências da alta demanda industrial, que resulta na elevada geração de resíduos.

Dentre as implicações mais relevantes do descarte desses resíduos estão os impactos ambientais e econômicos (BOCCIA et al., 2019). Até mesmo as pequenas unidades fabris podem gerar quantidades significativas de resíduos,

capazes de poluir uma grande área. Além disso, deve-se considerar que o seu despejo indevido constitui desperdício de rendimentos para o produtor, que, ao considerar as quantidades geradas e a composição dos mesmos, optam por doar ou vender a preços muito baixos. O ônus econômico do desperdício de alimentos e o destino indevido de resíduos das indústrias alimentícias é de aproximadamente US\$ 680 bilhões nos países industrializados e US\$ 310 bilhões nos países em desenvolvimento (CORDEIRO; EL-AOUAR; ARAUJO, 2013; FAO, 2022b)

Geralmente, a composição desse material (bagaço) é representada por celulose, hemicelulose e lignina. Entretanto, em concentrações menores, pode-se encontrar amido, proteína, lipídeo e cinzas, dependendo da fonte botânica, condições de colheita, processamento e armazenamento (KENNEY et al., 2013). A variabilidade desses compostos reforça a importância de se avaliar especificamente o desempenho de cada biomassa, onde resíduos de malte (MN), gerados pela indústria cervejeira e resíduos de mandioca (CN), produzidos por fecularias, podem apresentar grande potencial de utilização.

O bagaço de malte (MN) apresenta composição média de 70-75% de carboidratos, 60-65% de fibra bruta (11-26% de celulose, 23-28% de hemiceluloses e 22-29% de lignina), 4-5% de lipídeos e 13-26% de proteínas (MELLO; MALI, 2014; STEINMACHER et al., 2012). Já o bagaço de mandioca (CN) é formado por cerca de 56-60% de amido, 15-18% de celulose, 4-5% de hemicelulose, 2-3% de lignina, 1,5-2,0% de proteínas, 0,4-0,5% de açúcares redutores, 2% de pentosanas e 0,83% de lipídeos (DIVYA; PADMAJA; MOORTHY, 2011; POLACHINI et al., 2019). Além da elevada concentração fibrosa e das características estruturais, a alta disponibilidade e o baixo custo incentivam a investigação aprofundada desses materiais. No entanto, a forma nativa limita a sua utilização. Nesse sentido, faz-se necessária a aplicação de tratamentos alternativos.

Dentre os métodos comumente utilizados na transformação de materiais lignocelulósicos estão os químicos, físicos e/ou uma combinação deles, que objetiva quebrar e expor a sua estrutura, além de extrair componentes (por exemplo, açúcares, proteínas, lipídios e compostos bioativos), tornando-os mais acessíveis a modificações (MORONE et al., 2019; ZHANG et al., 2016).

Os tratamentos alcalinos tendem a solubilizar a lignina, evidenciar a estrutura lignocelulósica (ZABED et al., 2017), e, em materiais ricos em proteínas, pode-se conseguir uma solubilização elevada, dependendo do pH utilizado na reação,

sendo que a homogeneização pode aumentar a eficiência dos resultados. Em contra partida, o uso de ácidos, como o ácido sulfúrico, visam hidrolisar a estrutura lignocelulósica e dos grânulos de amido (RAUD et al., 2019). A aplicação de altas temperaturas tende a potencializar a efetividade do tratamento.

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi submeter os bagaços de malte e de mandioca a hidrólise química (alcalina e ácida, respectivamente), afim de obter a fração fibrosa e caracterizar os bagaços nativos e tratados, por meio de análises físico-químicas, granulométricas, colorimétricas, térmicas e cristalinas para verificar a efetividade dos tratamentos.

4.4 Material e métodos

4.4.1 Material

4.4.1.1 Obtenção e preparação dos bagaços de malte e de mandioca

O bagaço de malte (MN) foi cedido pela cervejaria Trieste, localizada na cidade de Potirendaba-SP, Brasil. Após a etapa de filtração, o bagaço foi coletado e transportado em caixa isotérmica, diretamente para o Laboratório de Bioprocessos da Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José do Rio Preto-SP, Brasil. Foi realizada a secagem em estufa com circulação e renovação de ar (60 °C / 8 horas) para eliminar o excesso de umidade.

O bagaço de mandioca (CN) foi doado pela indústria Pinduca Alimentos, localizada na cidade de Araruna-PR, Brasil. Este material foi coletado diretamente da linha de produção (seco e devidamente embalado) de farinha de mandioca, e imediatamente transportado para o laboratório de análises.

Os bagaços secos foram armazenados em recipientes hermeticamente fechados e refrigerados a -6 °C. Posteriormente, as amostras foram moídas em moinho de facas (Marconi, modelo MA 340, Piracicaba, Brasil) e novamente armazenadas até a realização dos tratamentos e modificações (Figura 16).

Figura 16. (A) Bagaço de malte coletado da indústria e seco, (B) Bagaço de malte moído, (C) Bagaço de mandioca coletado da indústria, (D) Bagaço de mandioca moído.



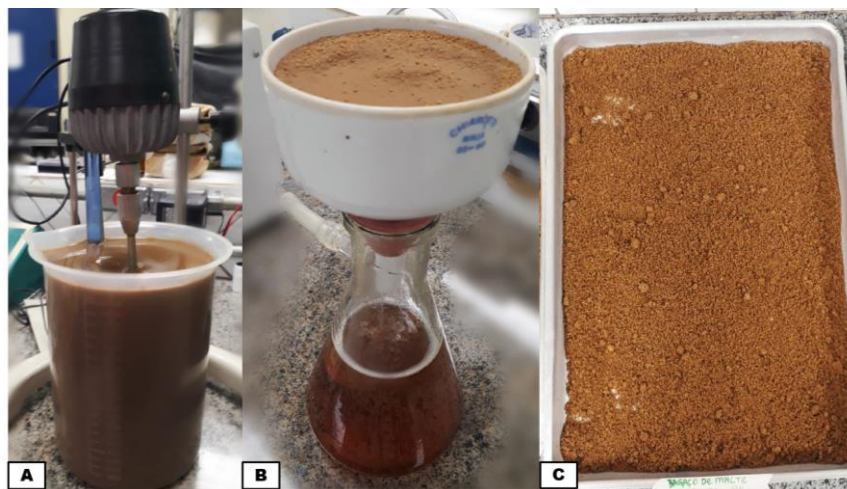
Fonte: elaborada pela autora.

4.4.2 Preparo das amostras

4.4.2.1 Tratamento alcalino no bagaço de malte

O tratamento aplicado ao bagaço de malte (MT) objetivou solubilizar o excesso de proteínas, eliminando parte da mesma (FENNEMA, 1996). A metodologia utilizada foi proposta por Silva (2007), com modificações. Primeiramente, pesou-se a amostra (100 g, b. s.) e adicionou-se 500 mL de água destilada e solução de NaOH 0,1 N até atingir o pH 9,0. Esta solução foi mantida sob constante agitação e permanência do pH 9,0 por 4 horas. Após, a amostra foi filtrada e lavada com água deionizada (2000 mL para cada 50 gramas de biomassa) e o pH foi reduzido para 6,0 (pH alimentício) com solução de HCl 0,1 N. A amostra foi filtrada e seca a 45 °C por 48 horas e posteriormente moída (Marconi, modelo MA 340, Piracicaba, Brasil) (Figura 17).

Figura 17. Bagaço em reação (A), bagaço lavado e filtrado (B) e bagaço seco (C).

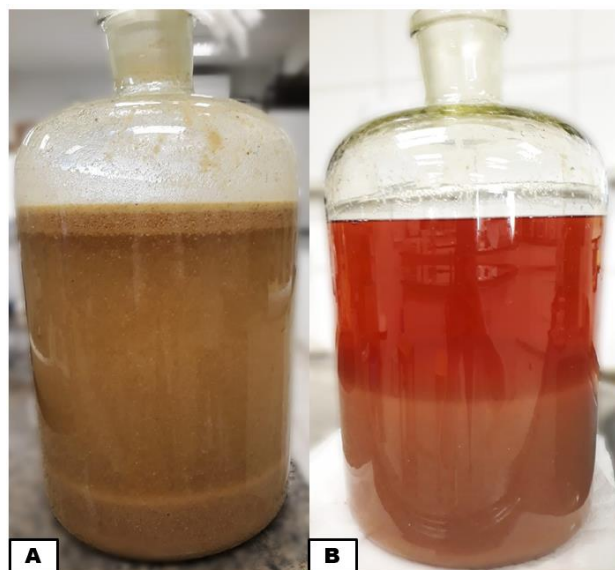


Fonte: elaborada pela autora.

4.4.2.2 *Tratamento ácido no bagaço de mandioca*

O bagaço de mandioca (CN) foi submetido ao processo de hidrólise ácida (CT), com o objetivo de eliminar o amido residual e promover a despolimerização de moléculas complexas, como a lignina e celulose que compõem o mesmo, facilitando a exposição da celulose. Para tanto, baseou-se na metodologia proposta por Zenatti et al. (2015). Os ensaios ocorreram na proporção de 100 mL de solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) com concentração de 0,15 Mol/L para cada 5 gramas de bagaço (base seca). A reação ocorreu em autoclave (Phoenix, modelo AV-75/9798) a 121 °C por 60 minutos (Figura 18). Logo após, o sobrenadante foi separado da biomassa por filtração, neutralizado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 50%, lavado com água deionizada (2000 mL para cada 50 gramas de biomassa), novamente filtrado, seco em estufa a 45 °C por 48 horas e moído (Marconi, modelo MA 340, Piracicaba, Brasil).

Figura 18. Bagaço antes da hidrólise (A) e bagaço hidrolisado (B).



Fonte: elaborada pela autora.

4.4.3 Caracterização dos bagaços nativos e tratados

4.4.3.1 Composição centesimal

A composição centesimal dos bagaços nativos e tratados consistiu da determinação de umidade, proteínas, lipídios, fibras brutas, cinzas e carboidratos. Para a determinação da umidade (AOAC 934.01), aproximadamente cinco gramas de amostra foram colocados em estufa (FANEM, modelo 315-SE) a 105 °C até obtenção de peso constante (AOAC, 2000). A análise de proteínas (método 984.13) foi realizada pelo método de micro Kjeldahl a partir das etapas de digestão, destilação e titulação da amostra, obtendo a quantidade de nitrogênio, onde o teor proteico foi quantificado multiplicando o resultado por 6,25 (AOAC, 1995). O teor de lipídios (método Al 3-75) foi quantificado por refluxo por quatro horas em extrator Soxhlet com hexano, seguido por secagem do balão em estufa (FANEM, modelo 315-SE) a 105 °C/12 h, sendo o teor de lipídios quantificado por variação de peso (AOCS, 2009). O teor de fibras brutas (método Ba6-84) foi realizado por digestão ácida e básica (AOCS, 2009). As cinzas (AOAC 942.05) foram determinadas por meio de incineração de aproximadamente cinco gramas de amostra em cadinho de porcelana em mufla (Fornomax, modelo 110/1101) a 600 °C/6 h (AOAC, 2000). O conteúdo de carboidratos totais foi calculado por diferença (100 - umidade -

proteínas - lipídios - fibras brutas - cinzas) (HAGER et al., 2012).

4.4.3.2 Moagem e Granulometria

As amostras nativas e tratadas foram moídas. A primeira moagem foi realizada em moinho de facas (Marconi, modelo MA 340, Piracicaba, Brasil) para diminuição da superfície de contato e melhor homogeneização. Em seguida, foi realizada a granulometria utilizando um conjunto de peneiras de 0,177 mm, 0,149 mm, 0,125 mm, 0,105 mm, 0,088 mm, 0,074 mm, 0,044 mm e o fundo, sendo acionado por um equipamento vibrador de peneiras (Bartel, modelo 2692, série 0407) por 15 minutos. As amostras com diâmetro abaixo de 0,088 mm foram armazenadas (moagem fina). A porção que não atingiu a granulometria desejada (moagem grossa) foi submetida a uma segunda moagem em moinho de bolas (Marconi, modelo MA-500) por 8 horas. Foi novamente realizada a separação granulométrica, a qual coletou-se a parte correspondente ao diâmetro abaixo de 0,088 mm e homogeneizou-se com a amostra obtida da primeira moagem.

4.4.3.3 Análise de Cor

A determinação da cor dos bagaços foi efetuada a partir de um colorímetro Hunterlab, (Color Flex 45/0, Reston, Estado Unidos) e software Universal versão 4.10 empregando iluminante D65 e observador 10°, com sistema L^* , a^* e b^* , onde os valores de L^* (luminosidade ou brilho) variam do preto (0) ao branco (100), a^* do verde (-60) ao vermelho (+60) e b^* do azul (-60) ao amarelo (+60) (FALADE; ONYEOZIRI, 2012). Também foram obtidos os valores de croma (C^*), que corresponde a intensidade ou saturação da cor, e os valores de Hue ($^{\circ}h$), que indicam 0° = vermelho; 90° = amarelo; 180° = verde e 270° = azul, foram obtidos relacionando-se os valores de a^* e b^* ($Hue = \tan^{-1} b/a$).

4.4.3.4 Poder de inchamento e Solubilidade

Os bagaços nativos e tratados foram submetidos à análise de poder de inchamento e solubilidade baseada na metodologia de Leach, Mccowen e Schoch (1959). A amostra (0,25 g) foi inserida em um tubo de centrífuga, previamente

pesado e tarado, e 15 mL de água destilada foram adicionados. Os tubos permaneceram em agitação por 30 minutos em temperaturas de 60, 70, 80 e 90 °C. Após, o tubo foi resfriado e centrifugado por 10 minutos a 4677 G. O sobrenadante foi recolhido e pesado em placas de petri, previamente taradas e secas em estufa a 105 °C por 24 horas para determinação da massa de bagaço solúvel (M_1) e os tubos, contendo a biomassa intumescida foram pesados para determinar a massa final intumescida (M_2) e calcular o poder de inchamento (Equação 1). A solubilidade foi calculada pela relação da massa de bagaço solúvel e a massa inicial do bagaço (M_i), em base seca (Equação 2).

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

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{M_1}{M_i} \cdot 100 \quad (2)$$

4.4.3.5 Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica das amostras (30-40 mg), previamente secas a 105 °C/1 h) foi realizada em um instrumento TGA 4000 ParkinElmer (Waltham, Massachusetts, EUA). Os ensaios ocorreram nas faixas de temperatura de 50 °C até 700 °C a uma taxa de aquecimento de 20 °C min⁻¹, sob atmosfera de gás nitrogênio (100 mL min⁻¹).

4.4.3.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As propriedades de entalpia dos bagaços nativos e tratados foram determinadas usando um calorímetro de varredura diferencial Pyris1 (Perkin Elmer, Waltham, EUA). As amostras de bagaço (4 mg, base seca) foram pesadas em placas de alumínio e seladas, permanecendo em temperatura ambiente por 12 h para equilibrar, e varridas a uma taxa de aquecimento a 10 °C min⁻¹, de 50 a 400 °C. O equipamento foi calibrado com padrão de índio (99,99%, ponto de fusão de 156,6 °C, ΔH fusão = 28,56 J g⁻¹). Uma placa vazia foi usada como referência.

4.4.3.7 *Difração de Raios X*

A cristalinidade dos bagaços nativos e tratados foi verificada por difração de raios X. Os dados foram coletados em um difratômetro de bancada MiniFlex 300 (Rigaku, Tóquio, Japão) equipado com radiação monocromática Cu-K α ($\lambda = 0,1542$ nm) a 40 kV e 20 mA (BENINCA et al., 2008). A análise foi realizada a 20 °C em um intervalo de ângulo 2θ de 2-60 ° com um período de medição de 5 s/ 2θ . A cristalinidade relativa foi estimada quantitativamente com base na relação entre os picos e as áreas totais (NARA, S., KOMIYA, 1983).

4.4.4 Análises estatísticas

A diferença estatística foi avaliada por análise de variância (ANOVA), considerando-se o nível de significância estatística ($p < 0,05$), seguido pelo teste t-Student e teste de Tukey, utilizando-se o software Minitab 17. Os resultados de cristalinidade do raio X foram calculados utilizando o software Origin 7.5.

4.5 Resultados e discussões

4.5.1.1 *Composição centesimal*

A investigação da composição centesimal é importante para se ter conhecimento da matéria-prima utilizada no estudo. O tratamento foi realizado com o intuito de modificar a composição dos bagaços de malte e de mandioca. Sendo assim, na Tabela 4 encontram-se os valores obtidos para a caracterização dos bagaços de malte e de mandioca, quanto a sua composição centesimal, na forma nativa e após o tratamento.

Tabela 4. Composição centesimal dos bagaços de malte e mandioca nativos e tratados.

Parâmetros	Tratamentos			
	Bagaço de malte nativo (MN)	Bagaço de malte tratado (MT)	Bagaço de mandioca nativo (CN)	Bagaço de mandioca tratado (CT)
Umidade	3,87 ± 0,02 ^a	2,27 ± 0,05 ^b	5,51 ± 0,07 ^b	7,02 ± 0,09 ^a
Lipídios	6,52 ± 0,19 ^a	3,83 ± 0,17 ^b	0,44 ± 0,09 ^a	0,22 ± 0,14 ^a
Proteínas	20,22 ± 0,34 ^a	5,53 ± 0,28 ^b	1,69 ± 0,06 ^b	2,50 ± 0,13 ^a
Proteínas solúveis	5,24 ± 0,07 ^a	0,70 ± 0,07 ^b	-	-
Cinzas	3,44 ± 0,00 ^b	3,84 ± 0,01 ^a	1,60 ± 0,03 ^b	4,89 ± 0,01 ^a
Fibra bruta	13,88 ± 0,35 ^b	20,48 ± 0,59 ^a	20,70 ± 0,01 ^b	50,86 ± 0,17 ^a
Carboidratos*	46,81	63,35	70,06	34,51

Valores das médias ± desvio padrão das análises realizadas em triplicata.

*Calculado por diferença.

**Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas correspondentes à mesma avaliação não diferem pelo teste de *T-Student* ($p > 0,05$).

O bagaço de malte (MN) foi obtido da indústria cervejeira logo após a separação do mosto. Portanto, estava com elevada umidade, tornando-se um produto altamente perecível e com alta probabilidade de contaminação e crescimento microbiano. Por isso, assim que foi realizada a coleta, o bagaço foi seco em estufa até 3,87% de umidade. Já para o bagaço de mandioca (CN), durante o processamento industrial, foi realizada a secagem, sendo que o produto foi fornecido com umidade de 5,51%. Os tratamentos realizados aumentaram novamente a umidade, sendo que os bagaços foram secos para ser armazenados, onde o bagaço de malte tratado (MT) obteve 2,27% de umidade e o bagaço de mandioca tratado (CT) 7,02%.

O bagaço de malte utilizado neste trabalho apresentou teor de lipídeos de 6,52%, e proteínas totais de 20,22%. Melo e Mali (2014) realizaram a caracterização do bagaço de malte proveniente de cervejaria e obtiveram 4,44% de lipídios e 13,60% de proteínas, respectivamente. Segundo Santos et al. (2003), a variação na composição do bagaço de malte deve-se à variedade, tempo de colheita e condições da cevada. Já o bagaço de mandioca apresentou 0,44% de lipídeos e 1,69% de proteínas. Resultados semelhantes foram relatados por Polachini et al. (2016) e Pandey et al. (2000). Como a concentração desses nutrientes é baixa, o bagaço de mandioca não é usado com frequência na alimentação animal. Consequentemente, deve-se buscar novas aplicações para esse material.

O principal objetivo do tratamento no bagaço de malte foi diminuir o excesso de proteínas, concentrando a fração fibrosa da amostra. Pode-se observar que o tratamento foi efetivo, pois os valores proteicos diminuíram significativamente de 20,22% de proteínas totais e 5,26% de proteínas solúveis para 5,53% e 0,70%, respectivamente. Além disso, o tratamento alcalino enfraquece a lignina e a hemicelulose, expondo a celulose para a modificação química (CHEN, 2014; ZABED et al., 2017).

As amostras de bagaço de mandioca possuem quantidades consideráveis de carboidratos residuais, sendo que a amostra nativa avaliada apresentou 70,06%. Isso concorda com os resultados obtidos por outros autores (entre 30% a 85%) (MARTÍN et al., 2017; PANDEY et al., 2000; POLACHINI et al., 2019). O objetivo do tratamento ácido no bagaço de mandioca foi desestabilizar o complexo lignocelulósico, degradar lignina e hemicelulose, e expor a celulose, facilitando a posterior modificação química. A partir dos valores de fibras brutas observou-se que o tratamento foi satisfatório, aumentando de 20,70% (CN) para 50,86% (CT). Outro indício da eficiência do tratamento são os valores de carboidratos totais obtidos, que ao diminuir (de 70,06% para 34,48%) sugere que parte dos compostos fibrosos (lignina e hemicelulose) e amido residual foram convertidos em açúcares redutores e solubilizados na fração aquosa, podendo ser usado como substrato para muitas aplicações, inclusive para a produção de etanol de segunda geração (ESCARAMBONI et al., 2018; ZHANG et al., 2016).

O teor de cinzas indica a quantidade de material inorgânico presente no material avaliado (IAL, 2008). Para a amostra de bagaço de mandioca, o tratamento (4,89%) causou um aumento significativo no teor de cinzas em comparação a amostra nativa (1,60%). Esse material tem tendência a absorver água, e, após a hidrólise ácida, foi obtida uma solução altamente viscosa, dificultando a homogeneização do meio e a consequente neutralização do mesmo. Isso demandou uma quantidade maior de NaOH, resultando na maior formação de sais (BLEAM, 2017). Para o bagaço de malte, apesar do tratamento ter aumentado significativamente o teor de cinzas, a proporção foi menor, pois o bagaço de malte absorveu menos água e consequentemente foi neutralizado em solução mais fluida.

4.5.1.2 Moagem e Granulometria

As farinhas obtidas das moagens em moinho de facas e moinho de bolas estão apresentadas no Anexo I.1 e, na Tabela 5, encontram-se a soma de rendimento em moagem grossa e moagem fina.

Tabela 5. Avaliação da eficiência da moagem em moinho de facas e moinho de bolas das amostras de bagaço de malte e mandioca nativos e tratados.

Amostras	Moinho de facas		Moinho de bolas	
	Moagem grossa (%)	Moagem fina (%)	Moagem grossa (%)	Moagem fina (%)
MN	95,06 ± 0,16 ^{a A}	4,94 ± 0,16 ^{b B}	74,77 ± 1,40 ^{b B}	25,23 ± 1,40 ^{a A}
MT	86,23 ± 0,07 ^{a B}	13,77 ± 0,07 ^{b A}	77,98 ± 0,06 ^{b B}	22,02 ± 0,06 ^{a A}
CN	69,95 ± 0,14 ^{a A}	30,05 ± 0,14 ^{a A}	69,96 ± 0,05 ^{a B}	30,04 ± 0,05 ^{a A}
CT	66,72 ± 1,00 ^{b A}	33,28 ± 1,00 ^{a A}	76,49 ± 0,09 ^{a A}	23,51 ± 0,09 ^{b B}

*Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas correspondentes ao mesmo tipo de moagem não diferem pelo teste de *T-Student* ($p > 0,05$).

**Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas correspondentes ao mesmo tipo de moagem não diferem pelo teste de *T-Student* ($p > 0,05$).

A moagem é um tratamento físico que tem como principal objetivo reduzir o tamanho de partícula da biomassa lignocelulósica, principalmente quando combinada com a separação granulométrica. Diante disso, fez-se a moagem em moinho de facas e moinho de bolas para obter o maior rendimento possível. Os resultados expressam que o bagaço de malte apresenta alta resistência a moagem (moinho de facas), e somente com moagem prolongada (moinho de bolas) é possível obter valores expressivos de partículas com diâmetro menor. Após o tratamento, uma redução significativa no tamanho do material foi observado para o moinho de facas. Já o bagaço de mandioca apresentou porcentagens semelhantes ($p \geq 0,05$) para ambos os moinhos. Entretanto, notou-se que a hidrólise ácida reduziu o rendimento de partículas finas no moinho de bolas, demonstrando que para este material o moinho de facas foi mais eficiente.

A avaliação granulométrica é imprescindível na decisão de aplicação de materiais fibrosos, pois o aumento da superfície de contato pode influenciar diretamente na eficiência do processo e/ou modificações estruturais, além de direcionar os tipos de aplicações dessa biomassa.

4.5.1.3 Análise de Cor

A colorimetria indica a luminosidade e a cor predominante nas amostras. Os parâmetros avaliados para as amostras MN, MT, CN e CT estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Avaliação colorimétrica dos bagaços de malte e de mandioca nativos e tratados.

Amostras	L*	a*	b*	C*	h*
MN	57,18 ± 0,13 ^a	6,45 ± 0,05 ^b	21,62 ± 0,08 ^b	24,44 ± 0,16 ^b	72,90 ± 0,34 ^a
MT	50,92 ± 0,04 ^b	9,67 ± 0,01 ^a	25,78 ± 0,05 ^a	29,67 ± 0,29 ^a	70,32 ± 0,79 ^b
CN	75,27 ± 0,26 ^a	5,13 ± 0,05 ^b	19,59 ± 0,40 ^b	22,00 ± 0,45 ^b	74,18 ± 0,31 ^a
CT	66,99 ± 0,38 ^b	7,20 ± 0,05 ^a	21,08 ± 0,47 ^a	24,25 ± 0,35 ^a	71,06 ± 0,66 ^b

*Médias ± desvios padrões das determinações em triplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas correspondentes à mesma avaliação não diferem pelo teste de *T-Student* ($p > 0,05$).

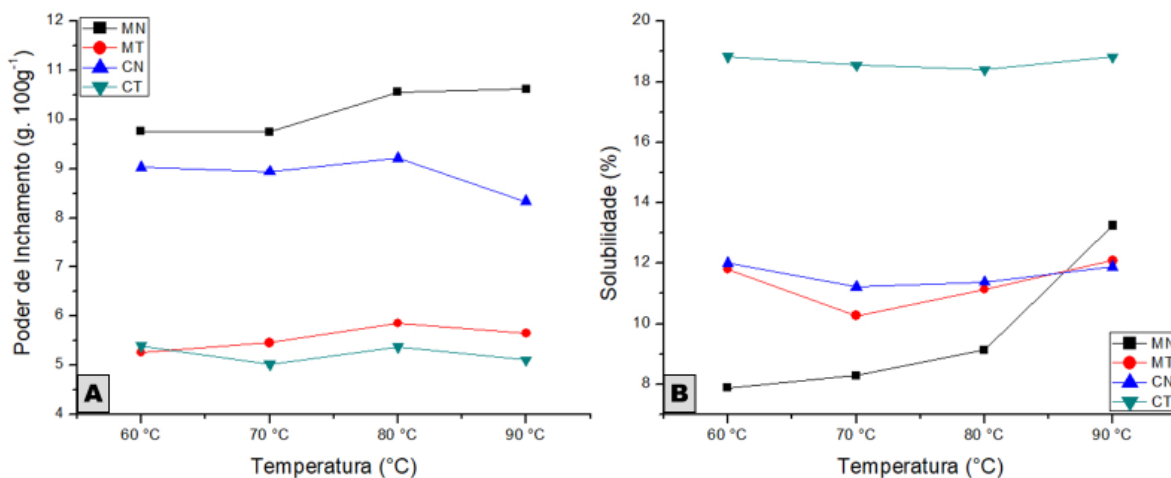
Os bagaços nativos (MN e CN) apresentam-se mais claros quando comparados aos seus respectivos tratamentos (MT e CT). Tanto o “trub” quanto o amido residual foram solubilizados e eliminados parcialmente na fração aquosa durante os tratamentos químicos, como pode ser observado nos resultados expressos na composição centesimal, ocasionando o escurecimento das amostras tratadas. Os parâmetros a* e b* aumentaram ($p < 0,05$) para ambos os tratamentos, demonstrando que as amostras tendem ao vermelho e amarelo, devido aos maiores teores de cinzas e fibras presentes.

Os valores de C* e h* correspondem a saturação e tonalidade das amostras, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos, notou-se que as hidrólises alcalina (MT) e ácida (CT) intensificaram a saturação e diminuíram a tonalidade dos bagaços ($p < 0,05$).

4.5.1.4 Poder de inchamento e Solubilidade

Na Figura 19 e Anexos I.2 e I.3 podem ser visualizados os resultados do poder de inchamento e solubilidade dos bagaços nativos e tratados, estudados nas temperaturas de 60, 70, 80 e 90 °C. Esta faixa compreende a temperatura de gelatinização encontrada para materiais contendo amido e fibras.

Figura 19. Comportamento do poder de inchamento (A) e solubilidade (B) dos bagaços nativos e tratados.



O poder de inchamento está relacionado com a disponibilidade de grupos hidrofílicos (-OH) em se ligarem às moléculas de água e à capacidade de formação de gel das moléculas de amido. Ao analisar as amostras, observou-se que não houve formação de gel, mas para os bagaços nativos percebeu-se a ocorrência de um precipitado capaz de absorver água. Após o tratamento químico, a propriedade higroscópica foi reduzida significativamente ($p < 0,05$), demonstrando que a redução do percentual de carboidratos e aumento do teor de fibras apresentado na Tabela 4 refletiu na capacidade de absorver água do MT e CT, sugerindo a menor higroscopicidade das fibras quando comparadas ao amido, em que o aumento na concentração de celulose aumentou as interações entre as moléculas de amido e os grupos hidroxila da celulose, reduzindo a interação com as moléculas de água (HALAL et al., 2018). Também foi possível constatar que o aumento da temperatura não influenciou no poder de inchamento das diferentes fontes botânicas nativas e tratadas.

A solubilidade dos bagaços MN e CN aumentaram com os tratamentos aplicados (MT e CT). Isso pode ter ocorrido devido à presença de grupos hidroxila também presentes na celulose que se fixam ao material com maior afinidade pela água e, conseqüentemente, apresentam maior solubilidade em água.

A solubilidade do material estudado é um parâmetro importante, porque indica sua integridade em meio aquoso, onde pode definir o seu espectro de aplicação. Esta propriedade funcional pode ser influenciada pelo tamanho e forma molecular. Isso pode ser verificado pela diferença apresentada para cada fonte

botânica, onde o bagaço de mandioca apresentou maiores valores de solubilidade, enquanto o bagaço de malte sofreu influência da variação de temperatura ($p < 0,05$) antes e depois do tratamento.

4.5.1.5 Termogravimetria (TG)

As temperaturas iniciais, de pico, perdas de massa e valores de resíduo dos bagaços nativos (MN e CN) e dos bagaços tratados (MT e CT) estão dispostos na Tabela 7. Em termos de composição, dividem-se as curvas de degradação da biomassa em três zonas principais: zona de hemicelulose (245–290 °C), zona de celulose (290–350 °C) e zona de lignina (350–525 °C) (EDHIREJ et al., 2017). A perda de peso máxima em todas as amostras foi concluída até cerca de 550 °C.

Tabela 7. Avaliação de TG e DTG dos bagaços nativos e tratados.

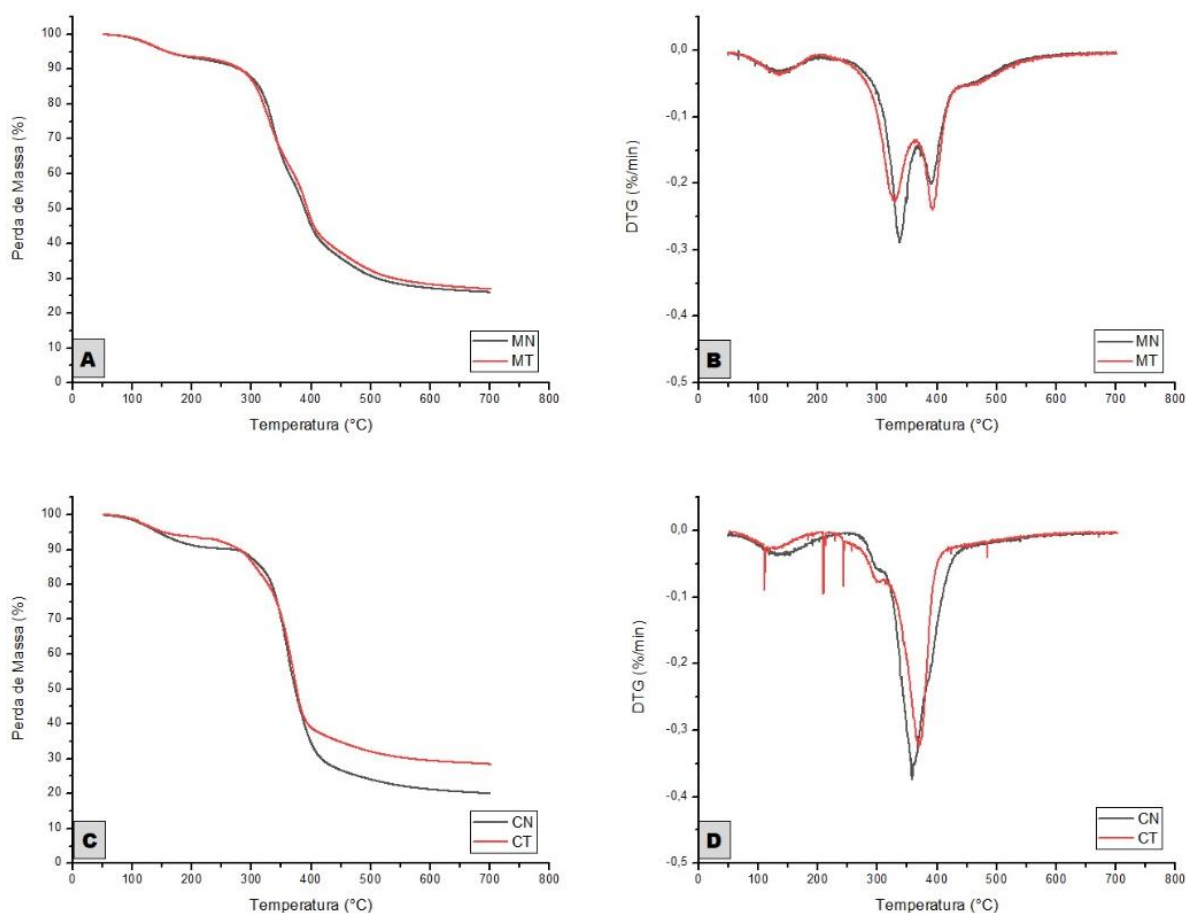
Amostras	Picos TG-DTG					% Resíduo
	Pico 1	Estabilidade	Pico 2	Pico 3	Pico 4	
MN						
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	51-180	180-275	276-369	369-433	433-517	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	132,93	-	336,72	392,07	469,44	
$\Delta m/\%$	6,04	-	32,16	19,99	8,34	26,02
MT						
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-269	269-364	364-437	437-518	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	133,78	-	327,64	393,44	474,19	
$\Delta m/\%$	5,96	-	29,11	22,84	7,96	26,93
CN						
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-289	290-460	-	-	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	131,03	-	359,60	-	-	
$\Delta m/\%$	7,81	-	62,81	-	-	20,04
CT						
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	51-180	180-277	278-426	-	-	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	126,08	-	370,22	-	-	
$\Delta m/\%$	5,97	-	53,77	-	-	28,46

Θ , Variação de temperatura; T_p , temperatura de pico; Δm , perda de massa.

A primeira perda de massa, entre 50 e 180 °C, ocorreu devido a evaporação da umidade e produtos voláteis. Neste estudo, os perfis das diferentes fontes botânicas comportaram-se de forma distinta, onde verificou-se que o bagaço de malte apresentou dois picos de perda de massa significativa, enquanto o bagaço de mandioca somente um. A formação de dois picos é geralmente observada para materiais puros, quando há componentes amorfos e cristalinos presentes no material. O componente amorfo dá um pico em temperatura mais baixa seguido por

um pico em temperatura mais alta devido ao componente cristalino (SAEED; SALEEM; DURRANI, 2020). As curvas de TG e os picos de perdas de massa podem ser observados a partir da Figura 20.

Figura 20. Avaliação de TG (A e C) e DTG (B e D) dos bagaços de malte e mandioca nativos e tratados.



A maior perda de massa foi observada no segundo pico para todas as amostras, pois materiais fibrosos apresentam grande concentração de celulose em comparação com os outros componentes (hemicelulose e lignina). Para o bagaço de malte, verificou-se que o tratamento alcalino diminuiu a temperatura de pico e perda de massa, demonstrando uma menor estabilidade térmica da celulose, sugerindo maior conversão de celulose cristalina em celulose amorfa, além do rearranjo e reorientação dos cristais de celulose. Entretanto, na região de perda de massa da lignina (pico três), o tratamento aumentou a perda de massa, demonstrando que a sua estabilidade diminuiu e ocorreu degradação.

Para o bagaço de mandioca, o tratamento ácido influenciou no aumento da

temperatura de pico e diminuição da perda de massa, que pode ser atribuído à despolimerização térmica da hemicelulose e à clivagem das ligações glicosídicas da celulose. Comportamento semelhante foi encontrado por Daudt et al. (2017), que avaliaram fibras de casca de banana. Notou-se um aumento expressivo na porcentagem de resíduo, concordando com os resultados da composição centesimal, pois o tratamento ocasionou formação de sais durante a neutralização do pH.

4.5.1.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial foi empregada para identificar as propriedades térmicas dos materiais estudados. Os resultados obtidos para as amostras nativas e tratadas são sumarizados na Tabela 8 e Anexo I.4.

Tabela 8. Picos endotérmicos e exotérmicos de MN, MT, CN e CT.

Pico	Amostras	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)
1	MN	135,07 ± 3,15 ^a	147,08 ± 1,29 ^a	160,11 ± 4,18 ^a	25,04	20,78 ± 0,50 ^b
	MT	129,47 ± 1,79 ^a	145,84 ± 0,70 ^a	163,47 ± 2,76 ^a	34,00	48,16 ± 2,39 ^a
	CN	139,99 ± 2,93 ^a	154,23 ± 0,46 ^a	169,55 ± 0,08 ^a	29,56	34,51 ± 0,05 ^a
	CT	108,37 ± 0,45 ^b	123,56 ± 1,28 ^b	141,22 ± 0,51 ^b	32,86	49,31 ± 0,26 ^b
2	MN	259,38 ± 0,42 ^a	276,23 ± 0,13 ^a	291,34 ± 0,64 ^a	31,96	-40,57 ± 0,51 ^b
	MT	244,03 ± 0,18 ^b	266,43 ± 0,11 ^b	289,61 ± 0,32 ^a	45,58	-49,20 ± 0,77 ^a
	CN	344,43 ± 0,08 ^a	355,56 ± 0,02 ^b	370,19 ± 0,02 ^a	25,76	25,72 ± 0,68 ^b
	CT	341,38 ± 0,66 ^a	359,36 ± 0,01 ^a	380,14 ± 1,63 ^a	38,76	35,08 ± 0,12 ^a
3	MN	333,18 ± 0,21 ^b	346,74 ± 0,13 ^b	357,68 ± 0,57 ^a	24,50	-13,85 ± 1,58 ^a
	MT	337,07 ± 0,35 ^a	350,41 ± 0,34 ^a	360,54 ± 0,62 ^a	23,48	-10,23 ± 0,57 ^a
	CN	-	-	-	-	-
	CT	-	-	-	-	-

T₀, T_p, T_c = temperaturas de início, pico e conclusão, ΔT: T_c – T₀. ΔH= variação de entalpia.

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

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

Analisando os resultados, pode-se observar que as amostras de ambas as fontes botânicas apresentam um comportamento semelhante, comparando a forma nativa e tratada, quanto à sua linha base, porém seus fluxos de calor estão localizados em pontos variados, com reações endotérmicas e exotérmicas ocorrendo com diferentes taxas de fluxo de calor (W/g). O primeiro pico ocorreu na faixa de 108 a 140 °C, por meio de uma reação endotérmica que está relacionada a perda de umidade (RANGASAMY et al., 2021), bem como resíduos voláteis. Para

as amostras nativas, o pico endotérmico ocorre em temperaturas mais elevadas do que para as amostras tratadas, assim como a variação de entalpia, pois mesmo as fibras tendo sido previamente secas para cada análise a eliminação de água é dificultada pelo seu caráter hidrofílico.

As curvas de DSC dos compósitos de fibras de bagaço de malte não tratadas e tratadas mostram diferenças nas variações de entalpia da transição exotérmica do pico dois. Observa-se que o pico da temperatura de cristalização da amostra tratada é deslocado a temperaturas levemente menores do que a amostra nativa. A diferença encontrada para a fusão da celulose na amostra que passou por tratamento alcalino pode estar associada a uma diminuição da cristalinidade da matriz e consequência da interação fibra-matriz. O pico três demonstra aumento de temperatura ($p \leq 0,05$), apesar de não apresentar diferença ($p \geq 0,05$) na variação de entalpia.

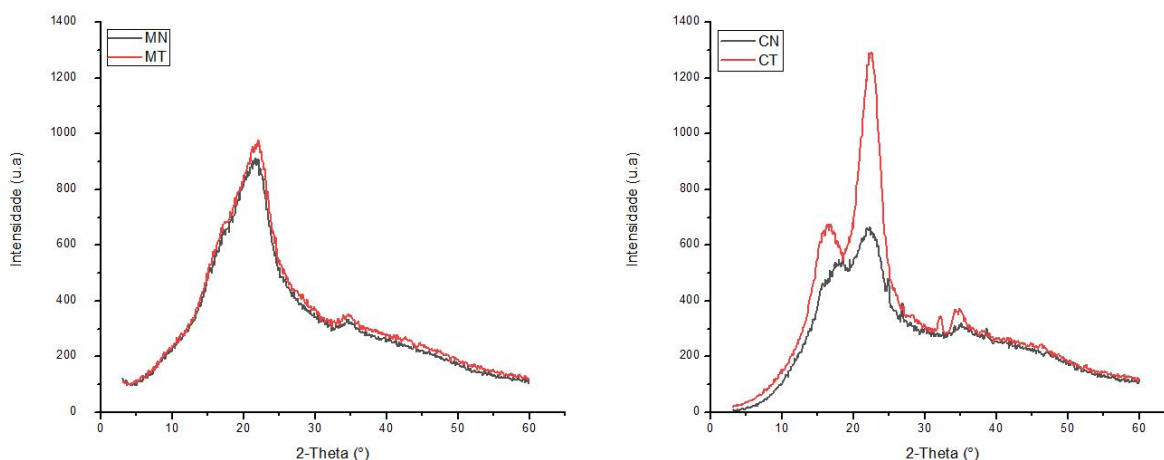
Também foi observado que, para o bagaço de mandioca tratado, a curva endotérmica de degradação (ΔT) e do segundo pico (T_p) são superiores, quando comparado ao bagaço nativo. Isso refere-se principalmente à celulose, que degrada entre 240°C e 380°C, e como o tratamento teve por objetivo hidrolisar e remover parcialmente hemicelulose e lignina, o material possui um percentual maior de celulose, e logo libera uma quantidade maior de energia (ΔH) no momento da degradação.

Esses dados são concordantes com as curvas termogravimétricas obtidas nesta mesma faixa de temperatura.

4.5.1.7 Difração de Raios X

As análises de difração de raios X foram utilizadas para determinar se ocorreram mudanças na cristalinidade e morfologia das fibras dos bagaços de malte e mandioca. Os perfis de difração das fibras nativas e tratadas podem ser observados na Figura 21 (valores de picos e índice de cristalinidade encontram-se no anexo I.5).

Figura 21. Espectros de raio X dos bagaços MN, MT, CN e CT.



Ao observar os espectros obtidos do bagaço de malte, notou-se que o tratamento alcalino não provocou uma mudança estrutural, quando comparado com a amostra nativa, que manteve a conformação de celulose II, com pico de difração em 2θ na região de $22,0^\circ$ (PARPARITA et al., 2014). Mas este proporcionou um aumento na cristalinidade das fibras de 41,97% da fibra bruta, para 43,75% na fibra tratada, que pode ser justificado pelo teor de proteína (20,22 g/100 g) do bagaço nativo que foi superior ao teor de celulose (13,88 g/100 g), sendo que o arranjo especial complexo das moléculas de proteína gera materiais com menor capacidade de cristalização (JACOMETTI et al., 2015), e ao reduzir este composto a cristalinidade tende a aumentar.

Com relação ao bagaço de mandioca, o difratograma demonstrou a formação de dois picos característicos de celulose tipo II na faixa de $2\theta = 16,3$ e 22° . No entanto, a fibra CT apresentou maior intensidade dos picos, que refletiu em uma mudança no índice de cristalinidade de 19,57% na amostra nativa para 35,37%, indicando que o tratamento ácido foi drástico e ocorreu remoção de hemicelulose e lignina, concordando com comportamento encontrado por Sankhla, Sardar e Neogi (2021).

4.6 Conclusões

As frações fibrosas dos bagaços de malte e mandioca foram expostas de maneira satisfatória, visto que o tratamento alcalino reduziu a proteína e a hidrólise ácida removeu parcialmente o amido presente nos respectivos materiais.

A eficiência dos tratamentos foi comprovada a partir das análises físico-químicas, colorimétricas, térmicas e cristalinas.

Os bagaços tratados (MT e CT) apresentam grande potencial de aplicação quando altos teores de celulose são requeridos, como no desenvolvimento de insumos modificados quimicamente e possíveis clarificantes de bebidas.

Referências

- AOAC. **Official Methods of Analysis of International**. 16. ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of International**. 17. ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
- AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 6th Champa ed. Washington: American Oil Chemisys Society, 2009.
- BENINCA, C. et al. Thermal behavior of corn starch granules modified by acid treatment at 30 and 50°C. **Ecletica Quimica**, v. 33, n. 3, p. 13–17, 2008.
- BLEAM, W. Acid-Base Chemistry. In: **Soil and Environmental Chemistry**. [s.l: s.n.]. p. 253-331. 2017.
- BOCCIA, F. et al. Food waste and bio-economy: A scenario for the Italian tomato market. **Journal of Cleaner Production**, v. 227, p. 424–433, 2019.
- CHEN, H. Biotechnology of lignocellulose: Theory and practice. **Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice**, p. 1–511, 2014.
- CORDEIRO, L. G.; EL-AOUAR, Â. A.; ARAUJO, C. V. B. DE. Energetic characterization of malt bagasse by calorimetry and thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 713–717, 2013.
- DAUDT, R. M. et al. Development of edible films based on Brazilian pine seed (*Araucaria angustifolia*) flour reinforced with husk powder. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 60–67, 2017.
- DAWSON, I. K. et al. Contributions of biodiversity to the sustainable intensification of food production. **Global Food Security**, v. 21, n. November 2018, p. 23–37, 2019.
- DIVYA, N. M. P.; PADMAJA, G.; MOORTHY, S. N. Biodegradation of cassava starch factory residue using a combination of cellulases, xylanases and hemicellulases. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 3, p. 1211–1218, 2011.
- ESCARAMBONI, B. et al. Ethanol biosynthesis by fast hydrolysis of cassava bagasse using fungal amylases produced in optimized conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 112, n. December 2017, p. 368–377, 2018.
- FALADE, K. O.; ONYEOZIRI, N. F. Effects of cultivar and drying method on color, pasting and sensory attributes of instant yam (*Dioscorea rotundata*) flours. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 879–887, 2012.
- FAO. **Food Loss and Food Waste**. Disponível em: <<http://www.fao.org/save-food/resources/keyfindings/en/>>. Acesso em: 5 maio. 2022.
- FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3rd. ed. New York: Food Chemistry, 1996.
- HAGER, A. S. et al. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 239–247, 2012.
- HALAL, S. L. M. EL et al. The properties of potato and cassava starch films combined with cellulose fibers and/or nanoclay. **Starch/Staerke**, v. 70, n. 1–2, p. 1–10, 2018.
- IAL, I. A. L. 1ª Edição Digital. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**, v. 9, p. 453–460, 2008.
- JACOMETTI, G. A. et al. The physicochemical properties of fi brous residues from the agro industry.

LWT - Food Science and Technology, v. 62, p. 138–143, 2015.

KENNEY, K. L. et al. Understanding biomass feedstock variability. **Biofuels**, v. 4, n. 1, p. 111–127, 2013.

LEACH, H. W.; MCCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule. II. Swelling power and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 36, p. 534–544, 1959.

MARTÍN, C. et al. Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 21–31, 2017.

MELLO, L. R. P. F.; MALI, S. Use of malt bagasse to produce biodegradable baked foams made from cassava starch. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 187–193, 2014.

MORONE, P. et al. Food waste: Challenges and opportunities for enhancing the emerging bio-economy. **Journal of Cleaner Production**, v. 221, p. 10–16, 2019.

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

PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresource Technology**, v. 74, p. 81–87, 2000.

PARPARITA, E. et al. Structure – morphology – mechanical properties relationship of some polypropylene / lignocellulosic composites. **Materials and Design**, v. 56, p. 763–772, 2014.

POLACHINI, T. C. et al. Water adsorption isotherms and thermodynamic properties of cassava bagasse. **Thermochimica Acta**, v. 632, p. 79–85, 2016.

POLACHINI, T. C. et al. Rheology of acid suspensions containing cassava bagasse: Effect of biomass loading, acid content and temperature. **Powder Technology**, v. 354, p. 271–280, 2019.

RANGASAMY, G. et al. An extensive analysis of mechanical, thermal and physical properties of jute fiber composites with different fiber orientations. **Case Studies in Thermal Engineering**, v. 28, n. September, p. 101612, 2021.

RAUD, M. et al. Potentials and challenges in lignocellulosic biofuel production technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 111, n. July 2018, p. 44–56, 2019.

SAEED, S.; SALEEM, M.; DURRANI, A. Thermal performance analysis of sugarcane bagasse pretreated by ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, v. 312, p. 113424, 2020.

SANKHLA, S.; SARDAR, H. H.; NEOGI, S. Greener extraction of highly crystalline and thermally stable cellulose micro-fibers from sugarcane bagasse for cellulose nano-fibrils preparation. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, n. July 2020, p. 117030, 2021.

SANTOS, M. et al. Variability of brewer's spent grain within a brewery. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 17–21, 2003.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e Caracterização de um Isolado Proteico de Soja Modificado com Perfil de Solubilidade da Caseína do Leite Humano**. [s.l.] Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

STEINMACHER, N. C. et al. Bioconversion of brewer's spent grains by reactive extrusion and their application in bread-making. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 542–547, 2012.

VANDERMEER, J. et al. Feeding Prometheus: An Interdisciplinary Approach for Solving the Global Food Crisis. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 2, n. July, p. 1–4, 2018.

ZABED, H. et al. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, n. October 2015, p. 475–501, 2017.

ZENATTI, D. C. et al. Quantificação de açúcares redutores em hidrolisado do bagaço da mandioca para uso na produção de metano. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 4, n. 2238–8753, p. 616–627, 2015.

ZHANG, M. et al. Biorefinery approach for cassava-based industrial wastes: Current status and opportunities. **Bioresource Technology**, v. 215, p. 50–62, 2016.

Anexos I

Anexo I.1. Moagem em moinho de facas e bolas e rendimento granulométrico das amostras de bagaço de malte e mandioca tratadas.

Moinho de facas	Mesh das peneiras (% de rendimento)						
	0,177	0,149	0,125	0,105	0,088	0,044	Fundo
MN	76,50 ± 0,19	13,56 ± 0,01	5,00 ± 0,02	0,83 ± 0,07	1,46 ± 0,03	2,32 ± 0,07	0,33 ± 0,05
MT	76,52 ± 0,13	8,32 ± 0,07	1,40 ± 0,00	7,46 ± 0,01	0,63 ± 0,01	3,47 ± 0,13	2,20 ± 0,04
CN	62,39 ± 0,12	5,31 ± 0,01	2,25 ± 0,02	7,21 ± 0,11	1,94 ± 0,03	11,59 ± 0,09	9,29 ± 0,08
CT	57,88 ± 0,88	7,72 ± 0,14	1,13 ± 0,02	8,01 ± 1,31	2,05 ± 0,02	9,84 ± 0,17	13,38 ± 0,12
Moinho de bolas							
MN	59,48 ± 1,21	12,21 ± 0,12	3,08 ± 0,07	7,24 ± 1,48	9,37 ± 0,02	4,85 ± 0,01	3,77 ± 0,06
MT	49,77 ± 0,22	16,75 ± 0,73	11,46 ± 0,46	9,90 ± 0,02	4,27 ± 0,13	6,28 ± 0,15	1,56 ± 0,06
CN	60,36 ± 0,14	8,31 ± 0,11	1,29 ± 0,09	5,54 ± 0,02	2,11 ± 0,03	12,85 ± 0,16	9,53 ± 0,25
CT	59,53 ± 0,11	12,43 ± 0,18	4,54 ± 0,20	6,55 ± 0,16	2,90 ± 0,00	9,61 ± 0,03	4,45 ± 0,09

MN, bagaço de malte nativo; MT, bagaço de malte tratado; CN, bagaço de mandioca nativo; CT, bagaço de mandioca tratado;

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

Anexo I.2. Poder de inchamento médio obtido nos bagaços de malte e mandioca nativos e após tratamento.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
MN	9,76 ± 0,11 ^{a A}	9,75 ± 0,79 ^{a A}	10,55 ± 0,09 ^{a A}	10,62 ± 0,52 ^{a A}
MT	5,26 ± 0,08 ^{a B}	5,46 ± 0,32 ^{a B}	5,85 ± 0,04 ^{a B}	5,65 ± 0,15 ^{a B}
CN	9,02 ± 0,19 ^{a A}	8,95 ± 0,35 ^{a A}	9,21 ± 0,60 ^{a A}	8,33 ± 0,07 ^{a A}
CT	5,39 ± 0,11 ^{a B}	5,02 ± 0,13 ^{a B}	5,38 ± 0,09 ^{a B}	5,11 ± 0,24 ^{a B}

MN, bagaço de malte nativo; MT, bagaço de malte tratado; CN, bagaço de mandioca nativo; CT, bagaço de mandioca tratado.

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

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

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

Anexo I.3. Solubilidade média obtida nos bagaços de malte e mandioca nativos e após tratamento.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
MN	7,87 ± 0,07 ^{b B}	8,29 ± 0,26 ^{b B}	9,14 ± 0,67 ^{b B}	13,24 ± 0,25 ^{a A}
MT	11,80 ± 0,31 ^{ab A}	10,27 ± 0,50 ^{b A}	11,13 ± 0,07 ^{ab A}	12,09 ± 0,49 ^{a A}
CN	11,99 ± 0,84 ^{a B}	11,22 ± 0,47 ^{a B}	11,39 ± 1,60 ^{a B}	11,88 ± 0,32 ^{a B}
CT	18,84 ± 0,15 ^{a A}	18,55 ± 1,43 ^{a A}	18,40 ± 0,73 ^{a A}	18,83 ± 1,01 ^{a A}

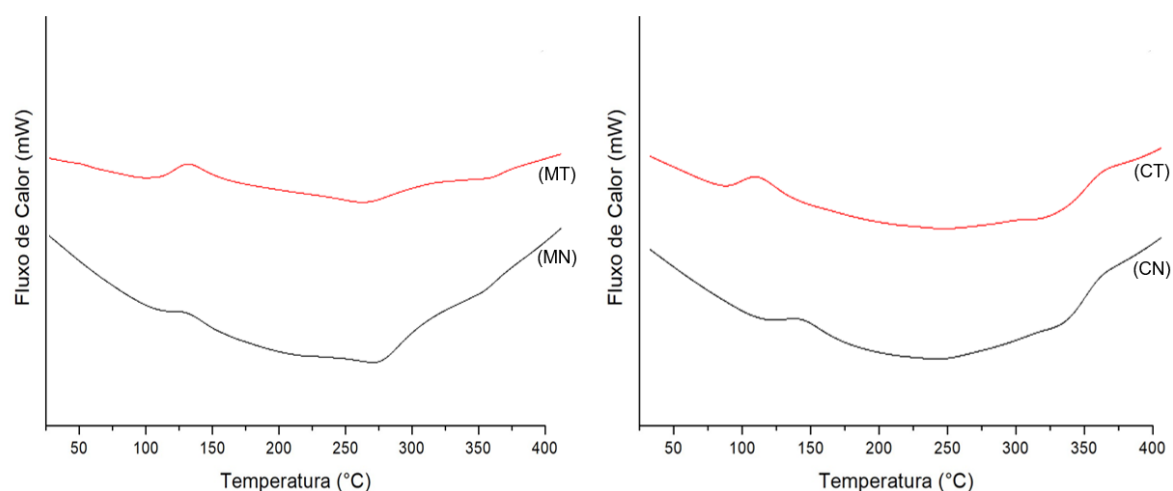
MN, bagaço de malte nativo; MT, bagaço de malte tratado; CN, bagaço de mandioca nativo; CT, bagaço de mandioca tratado.

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

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

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

Anexo I.4. Curvas de DSC em amostras de bagaços de malte e mandioca nativos e após tratamento.



MN, bagaço de malte nativo; MT, bagaço de malte tratado; CN, bagaço de mandioca nativo; CT, bagaço de mandioca tratado.

Anexo I. 5. Valores de raio-x e índice de cristalinidade obtidos nos bagaços de malte e mandioca nativos e após tratamento.

Amostras	Pico 1 (°)	Pico 2 (°)	Ic (%)
MN	-	21,65	41,97
MT	-	22,05	43,75
CN	16,75	21,95	19,57
CT	16,35	22,15	35,37

MN, bagaço de malte nativo; MT, bagaço de malte tratado; CN, bagaço de mandioca nativo; CT, bagaço de mandioca tratado.

Capítulo III

O estudo aborda a caracterização dos bagaços de malte e bagaço de mandioca modificados por oxidação e fosfatação, em que a metodologia proposta foi semelhante para ambas as fontes botânicas, entretanto os resultados foram discutidos separadamente.

5 AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BAGAÇO DE MALTE E BAGAÇO DE MANDIOCA SUBMETIDOS A MODIFICAÇÕES QUÍMICAS (OXIDAÇÃO E FOSFATAÇÃO) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

5.1 Resumo

Os bagaços de malte e de mandioca consistem em subprodutos gerados na obtenção de cerveja e de fécula de mandioca, respectivamente. Muitas vezes, esses resíduos agroindustriais não possuem a correta destinação e podem contribuir com a poluição do meio ambiente. Este estudo visou a modificação química por oxidação e fosfatação das frações fibrosas extraídas, objetivando conseguir um material aniônico. Os compósitos foram desenvolvidos com diferentes proporções de hipoclorito de sódio (1, 2 e 5%) e tripolifosfato de sódio (3, 9 e 15%). Após as modificações, realizaram-se análises físico-químicas para verificar a eficiência da obtenção de grupos carboxilas, carbonilas e fosfatos. Também foram avaliadas as características granulométricas, colorimétricas, térmicas (poder de inchamento, solubilidade, calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG)) e cristalinas (raio X). A partir dos resultados, foi possível constatar que os bagaços formaram cargas negativas variadas, dependendo da quantidade de reagente utilizado na modificação. As características granulométricas, assim como a cor, também foram influenciadas pelos tratamentos aplicados. As análises térmicas constataram que a variação na concentração e o tipo de reagente interferem drasticamente no comportamento dos materiais fibrosos, porém a cristalinidade não sofreu variações bruscas. Conclui-se que as modificações químicas causaram alterações na estrutura dos resíduos fibrosos, aumentando a aplicabilidade e utilização destes.

Palavras-chave: resíduos agroindustriais, materiais aniônicos, fibras, materiais

lignocelulósicos, fibra de bagaço, análise térmica.

5.2 Abstract

Malt and cassava bagasse consist of by-products generated in the production of beer and cassava starch, respectively. Often, these agro-industrial residues do not have the correct destination and can contribute to the pollution of the environment. This study aimed at the chemical modification by oxidation and phosphating of the extracted fibrous fractions, aiming to obtain an anionic material. The composites were developed with different proportions of sodium hypochlorite (1, 2 and 5%) and sodium tripolyphosphate (3, 9 and 15%). After the modifications, physical-chemical analyzes were carried out to verify the efficiency of obtaining carboxyl, carbonyl and phosphate groups. The granulometric, colorimetric, thermal (swelling power, solubility, differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetry (TG)) and crystalline (X-ray) characteristics were also evaluated. From the results, it was possible to verify that the bagasse formed varied negative charges, depending on the amount of reagent used in the modification. The granulometric characteristics, as well as the color, were also influenced by the treatments applied. The thermal analyzes found that the variation in the concentration and the type of reagent interfere drastically in the behavior of the fibrous materials, however the crystallinity did not suffer sudden variations. It was concluded that chemical modifications caused changes in the structure of fibrous residues, increasing their applicability and use.

Keywords: agro-industrial residues, anionic materials, fibers, lignocellulosic materials, bagasse fiber, thermal analysis.

5.3 Introdução

A indústria alimentícia produz uma gama de subprodutos com alta capacidade de reaproveitamento (OLIVEIRA et al., 2022), e, em todo o mundo, diversos estudos têm sido desenvolvidos para estimular aplicações mais eficientes e sustentáveis, visando satisfazer as preocupações ambientais e econômicas, explorando propriedades valiosas em resíduos de alimentos. A grande disponibilidade dessas matérias-primas é decorrente do grande processamento de alimentos em países com economia baseada na agricultura, como o Brasil (POLACHINI et al., 2016)

(JACOMETTI et al., 2015). Em muitas circunstâncias, este material apresenta alta concentração de celulose em sua composição, como o bagaço de malte e o bagaço de mandioca.

O bagaço de malte, gerado durante a fabricação de cerveja, é um componente do material sólido produzido a partir da filtração do mosto antes da fervura. Esse material sólido consiste principalmente de sobras de cascas e polpa de malte (JACOMETTI et al., 2015). E quando triturado representa 85% do produto total gerado pela indústria cervejeira e, portanto, é considerado o subproduto mais importante desse processo (LOPES et al., 2021). Da mesma forma, a produção industrial do amido de mandioca envolve a separação do amido e das fibras, resultando em amido purificado e resíduo sólido fibroso, denominado bagaço de mandioca (TRAVALINI et al., 2019).

A estrutura lignocelulósica dessas matérias-primas, apesar de complexas, podem ser utilizadas como recursos de baixo custo, abundantes e renováveis para o desenvolvimento de novos produtos. No entanto, a presença de componentes residuais, como proteínas e amido, bem como lignina e hemicelulose, tende a limitar sua viabilidade, fazendo-se necessário o uso de tratamentos alternativos que visem modificações morfológicas, químicas, térmicas, entre outras, dependendo da aplicação desejada e da fonte botânica do material.

Para ser considerado eficaz, o pré-tratamento deve diminuir o grau de polimerização das moléculas de celulose, expondo-as de forma que se tornem acessíveis a modificações, evitar formação de subprodutos inibidores dos processos de hidrólise e fermentação e, principalmente, ser economicamente viável (FURUSATO et al., 2018; RAUD et al., 2019; SAINI; SAINI; TEWARI, 2015). Tratamentos químicos com ácido sulfúrico (CHEN, 2014; RAUD et al., 2019) e hidróxido de sódio são comumente utilizados (ZABED et al., 2017) para atender a demanda de características reológicas específicas de novas aplicações (CHEN; KAUR; SINGH, 2017). Logo após, esses materiais lignocelulósicos podem ser submetidos a modificações, como, por exemplo, por processos químicos (oxidação, fosfatação, acetilação, succinilação, intercruzamento de ligações) (GUPTA et al., 2019; TRAVALINI, 2015), acarretando em uma reorganização estrutural, podendo ser carregados negativamente.

Assim, realizou-se a determinação de algumas propriedades físico-químicas do

bagaço de malte e de mandioca modificados em diferentes concentrações, seguido de avaliações colorimétricas, granulométricas, térmicas e cristalinas para verificar a eficiência das modificações por oxidação e fosfatação, objetivando conseguir um material aniônico, capaz de atuar como floculante quando aplicado em bebidas ricas em proteínas, como na produção de cervejas artesanais.

5.4 Material e métodos

5.4.1 Material

O bagaço de malte nativo (MN) foi tratado por reação alcalina (MT) seguindo a metodologia proposta por Silva (2007), com modificações. Para o bagaço de mandioca nativo (CN), empregou-se a hidrólise ácida (CT), seguindo a metodologia utilizada por Zenatti et al. (2015). A partir dos bagaços tratados, os resíduos fibrosos foram posteriormente modificados. Os reagentes utilizados foram de pureza analítica.

5.4.2 Amostragem e codificação

Foram aplicados dois tipos de modificações (fosfatação e oxidação), em três concentrações para cada fonte botânica, resultando em 12 tratamentos. O código, a fonte botânica, o tipo de modificação e as concentrações de reagentes estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Apresentação das amostras, codificações e modificações realizadas.

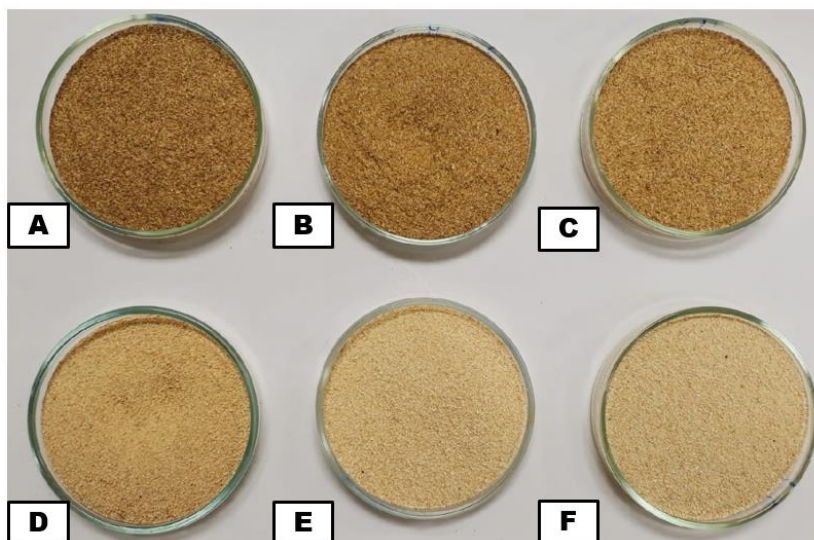
Ensaio	Código	Fonte Botânica	Modificação	Concentração (%)	Reagente
1	MO1	Malte	Oxidação	1	Hipoclorito de sódio (NaClO)
2	MO2	Malte	Oxidação	2	Hipoclorito de sódio (NaClO)
3	MO5	Malte	Oxidação	5	Hipoclorito de sódio (NaClO)
4	CO1	Mandioca	Oxidação	1	Hipoclorito de sódio (NaClO)
5	CO2	Mandioca	Oxidação	2	Hipoclorito de sódio (NaClO)
6	CO5	Mandioca	Oxidação	5	Hipoclorito de sódio (NaClO)
7	MF3	Malte	Fosfatação	3	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
8	MF9	Malte	Fosfatação	9	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
9	MF15	Malte	Fosfatação	15	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
10	CF3	Mandioca	Fosfatação	3	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
11	CF9	Mandioca	Fosfatação	9	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
12	CF15	Mandioca	Fosfatação	15	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)

5.4.3 Obtenção dos bagaços modificados

5.4.3.1 Oxidação

Os resíduos fibrosos de malte e de mandioca foram modificados por tratamento oxidativo com hipoclorito de sódio (NaClO) nas concentrações de 1, 2 e 5% (v/v) de cloro ativo, em relação ao peso (100 g, b.s.). A metodologia foi realizada seguindo o método descrito por Sangseethong, Lertphanich e Sriroth (2009). A dispersão foi mantida sob agitação constante por 2 horas, e o pH conservado em torno de 8,5 mediante adição de HCl 3% (v/v) e NaOH 3% (m/v). Ao final da reação, o pH da dispersão foi ajustado para 6,0 pela adição de HCl 3% (v/v). As amostras foram recuperadas por filtração, lavadas com água deionizada (2000 mL para cada 50 gramas de amostra) para eliminar o excesso de reagentes, e secas em estufa a 45°C por 48 horas (Figura 22).

Figura 22. Bagaços de malte e de mandioca oxidados: (A) MO1, (B) MO2, (C) MO5, (D) CO1, (E) CO2, (F) CO5.



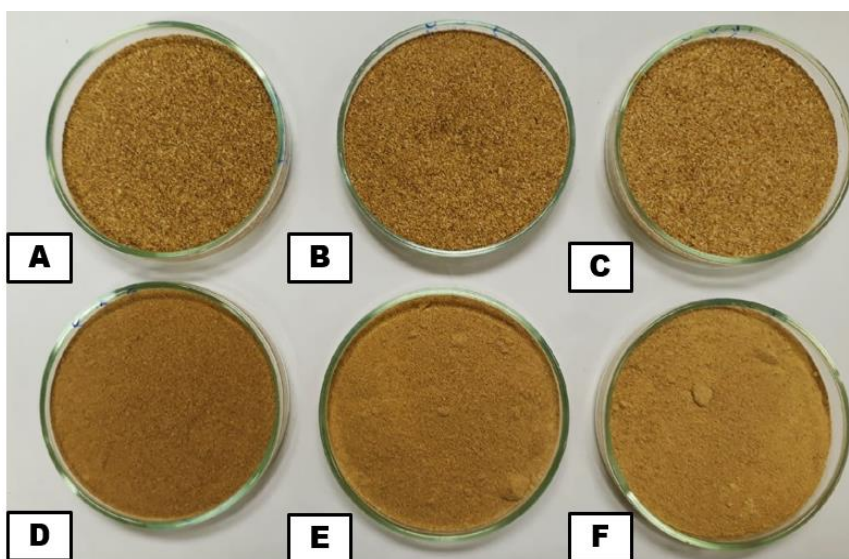
Fonte: elaborada pela autora.

5.4.3.2 Fosfatação

Os resíduos fibrosos de malte e de mandioca foram fosfatados baseado no método descrito na patente de Kerr e Clevelanand (1964), com modificações. A reação ocorreu a partir de soluções (120 mL) de tripolifosfato de sódio ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) nas concentrações de 3, 9 e 15% (m/v) em relação ao peso do bagaço (100 g, b.s.) (Figura

23). A dispersão foi mantida a 25 °C por 30 minutos, sendo revolvida a cada 5 minutos. Logo após, o bagaço foi seco em estufa a 45 °C por 48 horas. Em seguida, a amostra foi colocada em estufa com circulação de ar forçada (Tecnal, modelo TE-394/2) por 4 horas a 130 °C, objetivando a formação de grupos fosfatos. Por fim, cada bagaço foi novamente suspenso em água, filtrado e lavado com água deionizada (2000 mL para cada 50 gramas de amostra) para remover o excesso de reagente. Após, foi realizada a secagem a 45 °C por 48 horas.

Figura 23. Bagaços de malte e de mandioca fosfatados: (A) MF3, (B) MF9, (C) MF15, (D) CF3, (E) CF9, (F) CF15.



Fonte: elaborada pela autora.

5.4.4 Caracterização aniônica e estrutural dos bagaços modificados

5.4.4.1 Determinação do teor de grupos carboxilas

O teor de grupos carboxilas foi determinado pelo método de Smith (1967), com modificações. Os bagaços oxidados (10 gramas) foram dispersos em 100 mL de uma solução padronizada de HCl 0,1 mol/L e agitados por 30 minutos. A dispersão foi filtrada e o resíduo foi lavado com água deionizada (1000 mL) para a remoção do íon cloreto e, em seguida, seco em estufa a 45°C por 48 horas. Amostras de 2,0 gramas dos bagaços lavados foram dispersos em 100 mL de água destilada, aquecendo-se a dispersão em banho de água fervente com agitação contínua por 15 minutos. A

dispersão foi resfriada até aproximadamente 25 °C e titulada com solução padronizada de NaOH 0,1 mol/L até pH 8,3. Como branco, foi utilizada uma amostra de 2,0 gramas de bagaço natural, o qual foi analisado de maneira análoga ao bagaço oxidado. O teor de grupos carboxilas foi calculado utilizando a Equação 3, onde a % COOH corresponde ao percentual de carboxilas, V_1 ao volume (mL) de NaOH gasto na titulação, V_2 ao volume (mL) de NaOH gasto na titulação na amostra controle, $[NaOH]$ a concentração mol/L de NaOH, m a massa (g) da amostra (b.s.) e 0,045 a massa (g) miliequivalente do grupo carboxila (-COOH).

$$\% \text{ COOH} = \frac{(V_1 - V_2) \times [NaOH] \times 0,045 \times 100}{m} \quad (3)$$

5.4.4.2 Determinação do teor de grupos carbonilas

O teor de grupos carbonilas foi determinado seguindo a metodologia de Smith (1967), com adaptações. Uma amostra de 2,0 gramas de bagaço oxidado, previamente lavado com água deionizada, foi suspensa pela adição de 100 mL de água destilada em estado de ebulição. Após o resfriamento da dispersão até a temperatura ambiente, ocorreu acidificação até pH 3,2 com solução padronizada de HCl 0,1 mol/L, e adicionou-se 15 mL de solução de cloreto de hidroxilamina a 5% (m/v), o que acarreta no aumento de pH. A dispersão foi aquecida em banho de água a 40 °C por 4 horas para então ser titulada com solução padronizada de NaOH 0,1 mol/L até pH 3,2. Como branco, foi usada uma amostra de 2,0 g de bagaço nativo, que seguiu o procedimento de forma similar ao do bagaço oxidado. O teor de grupos carbonilas foi calculado utilizando a Equação 4, onde % CO corresponde ao percentual de carbonilas, V_1 ao volume (mL) de NaOH gasto na titulação, V_2 ao volume (mL) de NaOH gasto na titulação na amostra controle, $[NaOH]$ a concentração mol/L de NaOH, m a massa (g) da amostra (b.s.) e 0,028 a massa (g) miliequivalente do grupo carbonila (-C=O).

$$\% \text{ CO} = \frac{(V_1 - V_2) \times [NaOH] \times 0,028 \times 100}{m} \quad (4)$$

5.4.4.3 Teor de fósforo e grupos fosfatos

A quantificação de fósforo e grupos fosfatos foi determinada pelo método espectrofotométrico vanadato-molibdato, segundo a metodologia de APHA (1998) e Carmo et al. (2000), com modificações. A amostra foi pesada (500 mg) em cadinho de porcelana e calcinada em mufla a 600 °C por 4 horas. A cinza obtida foi dissolvida em solução de ácido nítrico 0,1 mol/L e adicionada em balão volumétrico de 25 mL, o qual foi completado com água deionizada. A partir disso, foram pipetados 500 µL dessa amostra solubilizada, 400 µL de solução de vanadato-molibdato e 1100 µL de água deionizada. Após 5 minutos de repouso, a absorbância foi lida a 420 nm em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22), previamente calibrado contra o branco. Os teores de fósforo foram determinados por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de dihidrofosfato de potássio ($y = 0,0454x + 0,2579$; $R^2=0,9984$). Logo após, foi realizado o cálculo utilizando a Equação 5, onde W corresponde ao resultado da equação da curva, V ao volume inicial do balão (25 mL), m a massa inicial da amostra e V_a ao volume da alíquota.

Para calcular o teor de grupos fosfatos, utilizou-se a Equação 6, onde P_{total} corresponde ao valor de fósforo obtido na Equação 3 e 2,29 é o fator de conversão para P_2O_5 .

$$P_{total} (g. 100g^{-1}) = \frac{(W \times V) \times 100}{m \times V_a} \quad (5)$$

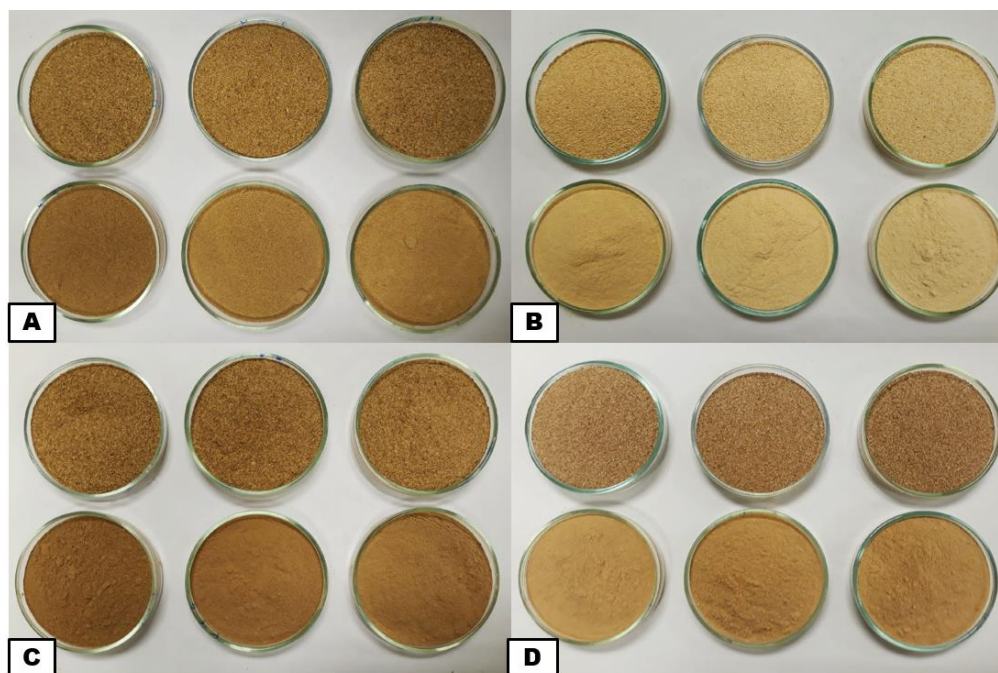
$$Fosfato (P_2O_5) (g. 100g^{-1}) = P_{total} \times 2,29 \quad (6)$$

5.4.4.4 Moagem e granulometria

As amostras modificadas foram moídas em duas fases. Primeiramente, utilizou-se um moinho de facas (Marconi, modelo MA 340, Piracicaba, Brasil). As partículas foram separadas por granulometria (Bartel, modelo 2692, série 0407), utilizando um conjunto de peneiras de 0,177 mm, 0,149 mm, 0,125 mm, 0,105 mm, 0,088 mm, 0,074 mm, 0,044 mm e o fundo, por 15 minutos. As amostras com diâmetro abaixo de 0,088 mm foram armazenadas. As partículas maiores foram submetidas a uma segunda

moagem em moinho de bolas (Marconi, modelo MA-500) por 8 horas. Foi novamente realizada a separação granulométrica, a qual coletou-se a parte correspondente ao diâmetro abaixo de 0,088 mm e homogeneizou-se com a amostra obtida da primeira moagem (Figura 24).

Figura 24. Moagem grossa e moagem fina: (A) bagaços de malte oxidados (1, 2 e 5%), (B) bagaços de mandioca oxidados (1, 2, 5%), (C) bagaços de malte fosfatados (3, 9 e 15%), (D) bagaços de mandioca fosfatados (3, 9 e 15%)



Fonte: elaborada pela autora.

5.4.4.5 Análise de Cor

Para a avaliação da cor utilizou-se um colorímetro Hunterlab (Color Flex 45/0, Reston, Estado Unidos) e software Universal versão 4.10 empregando iluminante D65 e observador 10°, com sistema CIEL L^* , a^* e b^* , em que os valores de L^* (luminosidade ou brilho) variam do preto (0) ao branco (100), os de a^* do verde (-60) ao vermelho (+60) e os de b^* do azul (-60) ao amarelo (+60). Também foram obtidos os valores de croma (C^*), que indicam a intensidade ou saturação da cor, e os valores de Hue ($^{\circ}h$), que indicam 0° = vermelho; 90° = amarelo; 180° = verde e 270° = azul, foram obtidos relacionando-se os valores de a^* e b^* ($Hue = \tan^{-1} b/a$).

5.4.4.6 Solubilidade e poder de inchamento

A avaliação de poder de inchamento e solubilidade foi realizada segundo a metodologia proposta por Leach, Mccowen e Schoch (1959). Pesou-se 0,25 gramas de amostra em tubo de centrífuga (previamente pesado e tarado), e adicionou-se 15 ml de água destilada. Os tubos permaneceram sob agitação por 30 minutos a 60, 70, 80 e 90 °C. Os tubos foram resfriados e centrifugados por 10 minutos a 4677 G. O sobrenadante foi adicionado em placa de petri (peso conhecido) e levado à estufa a 105 °C até peso constante, para determinação da massa de bagaço solúvel (M1). O material aderido à parede dos tubos (sedimento úmido) foi pesado para estipular a massa final intumescida (M2) e calcular o poder de inchamento (Equação 7). A solubilidade foi calculada pela relação da massa de bagaço solúvel (M1) e a massa inicial do bagaço (Mi), em base seca (Equação 8).

$$\text{Poder de inchamento (g. } 100\text{g}^{-1}) = \frac{M_2}{M_i - M_1} \quad (7)$$

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{M_1}{M_i} \cdot 100 \quad (8)$$

5.4.4.7 Termogravimetria (TG)

A estabilidade térmica e a degradação dos bagaços modificados foram analisadas em panelinhas de platina em um equipamento TGA 4000 ParkinElmer (Waltham, Massachusetts, EUA). As amostras (30-40 mg) foram aquecidas de 50 °C a 700 °C a uma taxa de aquecimento 20 °C min⁻¹. O nitrogênio foi utilizado como gás de purga (100 mL min⁻¹) para evitar reações termo-oxidativas. As curvas de TG e DTG (derivada termogravimétrica) foram utilizadas na interpretação dos dados.

5.4.4.8 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As variações de entalpia foram obtidas a partir de um calorímetro de varredura diferencial Pyris1 (Perkin Elmer, Waltham, EUA), previamente calibrado com padrão de índio (99,99 %, ponto de fusão de 156,6 °C, ΔH fusão = 28,56 J g⁻¹). As amostras

(4 mg, base seca) foram pesadas em placas de alumínio e seladas, permanecendo em temperatura ambiente por 12 horas para equilibrar e varridas a uma taxa de aquecimento a $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, de 50 a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$. Uma placa vazia foi usada como referência.

5.4.4.9 Difração de Raios X

A determinação da cristalinidade foi realizada em um difratômetro de bancada MiniFlex 300 (Rigaku, Tóquio, Japão) equipado com radiação monocromática Cu-K α ($\lambda = 0,1542\text{ nm}$) a 40 kV e 20 mA (BENINCA et al., 2008). A análise foi realizada a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ em um intervalo de ângulo 2θ de $2\text{--}60\text{ }^{\circ}$ com um período de medição de $5\text{ s}/2\theta$. A cristalinidade relativa foi calculada com base na relação entre os picos e as áreas totais (NARA, S., KOMIYA, 1983).

5.5 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Minitab 17, por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de t-Student e teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$). Os resultados de cristalinidade do raio X foram calculados utilizando o software Origin 7.5.

5.6 Resultados e Discussões

5.6.1 Determinação do teor de grupos carboxilas, carbonilas e fosfatos

A concentração do oxidante hipoclorito de sódio, pH e temperatura de reação são variáveis importantes no processo de modificação por oxidação do bagaço, resultando na formação de carboxilas e carbonilas. Já a fosfatação ocorre com auxílio de tripolifosfato de sódio (MAO; IMTIAZ; ZHANG, 2015) que pode reagir com o bagaço formando dois grupos de compostos: mono-éster-fosfato ou di-éster-fosfato (GUARÁS; LUDUEÑA; ALVAREZ, 2017). O preparo ocorre pelo aquecimento de uma mistura do composto ligeiramente úmido com solução do reagente, até proporcionar

suspensão com 40% de umidade. Após, a mistura é seca até 10% e aquecida a 120-170 °C por um período de tempo, onde o binômio tempo/temperatura proporciona diferentes graus de fosfatação (CEREDA, 1983; NABESHIMA; EL-DASH, 2004). Para conseguir os valores de grupos fosfatos, foram realizadas primeiramente as análises de cinzas e teor de fósforo residual. Diante disso, as Tabelas 10 e 11 apresentam os resultados obtidos pela variação de concentração de reagente em bagaço de malte e de mandioca.

Tabela 10. Avaliação da eficiência da modificação por oxidação com hipoclorito de sódio e fosfatação com tripolifosfato de sódio em bagaço de malte.

Tratamentos	Carboxila (%)	Carbonila (%)	Cinzas (%)	Fósforo (%)	Fosfato (%)
MO1	0,112 ± 0,00 ^c	0,042 ± 0,01 ^a	-	-	-
MO2	0,146 ± 0,00 ^b	0,048 ± 0,02 ^a	-	-	-
MO5	0,187 ± 0,01 ^a	0,052 ± 0,01 ^a	-	-	-
MF3	-	-	4,21 ± 0,05 ^{ab}	0,154 ± 0,01 ^a	0,352 ± 0,02 ^a
MF9	-	-	4,02 ± 0,02 ^b	0,148 ± 0,01 ^a	0,339 ± 0,01 ^a
MF15	-	-	4,49 ± 0,11 ^a	0,137 ± 0,00 ^a	0,314 ± 0,00 ^a
MN	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00	4,02 ± 0,02	0,002 ± 0,00	0,004 ± 0,00
MT	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00	1,53 ± 0,02	0,001 ± 0,00	0,003 ± 0,00

*Médias ± desvios padrões das determinações em triplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas correspondentes a mesma avaliação não difere pelo teste *Tukey* ($p > 0,05$).

Os bagaços de malte oxidados foram obtidos por reação com o agente oxidante, que introduziu grupos funcionais carboxila e carbonila nas cadeias de celulose a partir da oxidação dos grupos hidroxilas (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010). O grau de oxidação é definido pelo teor de grupos carboxílicos e carbonílicos formados (VANIER et al., 2012).

Para a formação de grupos carboxílicos, houve uma variação de 0,112% (MO1) a 0,187% (MO5). Vanier e colaboradores (2012), ao modificar amido de feijão, encontraram resultados entre 0,02% a 0,06% ao utilizar concentrações de hipoclorito de 0,5 a 1,5%, valores bem abaixo deste estudo.

Já para o teor de carbonilas, não houve variação estatística ($p > 0,05$). Este resultado já era esperado, pois o reagente hipoclorito de sódio, em condições controladas, tem tendência a formar mais grupos carboxílicos do que carbonílicos (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010).

Durante a fosfatação, os sais de fósforo provenientes do tripolifosfato de sódio são adicionados, mas não se ligam em sua totalidade ao bagaço. Diante disto, após o processo de fosfatação, é possível submeter o bagaço à diálise, com o objetivo de

remover estes sais não ligados que não contribuem para as alterações das características reológicas e, ainda, o tornam impróprio para aplicação em alimentos, pelo alto teor de fósforo. Em alimentos, o *Codex Alimentarius* preconiza níveis de fósforo não superiores a 0,4% (FAO, 2022a).

Observou-se que os bagaços nativos e submetidos ao pré-tratamento alcalino possuem valor insignificante de fósforo (0,000 – 0,000%), semelhante com os resultados encontrados por Oliveira (2015) que estudou amido de milho e mandioca e obteve 0,004% e 0,003%, respectivamente.

A formação de grupos fosfatos não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) ao aumentar a concentração de reagente. A modificação por fosfatação com tripolifosfato de sódio é mais comumente aplicada em amidos e quitosana, sendo que para materiais como bagaço de malte não foram encontrados estudos comparativos. Entretanto, em 2006, Bhumkar e Pokhakar avaliaram a influência do pH na formação de ligação cruzada (cross-linking) em quitosana, onde perceberam que em pH mais ácido (3,0), os grupos amino livres são hidratados e o tripolifosfato interage com $-NH^{+3}$ e, quando uma quantidade maior de tripolifosfato é adicionada, todos os grupos amino ficam saturados, diminuindo a formação de grupos fosfatos e iniciando a reticulação do meio. Já em pH mais elevado (pH 9), estão presentes íons OH^{-} e grupos fosfóricos, que competem entre si para interagir com os locais $-NH^{+3}$ da quitosana. Assim, a reticulação pode ser efetuada pela desprotonação em pH mais alto, enquanto o complexo quitosana-tripolifosfato em pH mais baixo é formado pela interação iônica entre quitosana carregada positivamente e grupos fosfóricos carregados negativamente. Em 2015, Zhao e colaboradores observaram que o aumento na concentração de tripolifosfato de sódio intensifica a competição com outros componentes da quitosana, dificultando a formação de cargas negativas. Esses pesquisadores também perceberam que a presença de $-NH^{+3}$ pode influenciar na reação e dificultar a modificação. Nasution et al. (2018) e Sacco et al. (2016) verificaram que o aumento de reagente aumenta a interação de um reticulador com um polímero para produzir os complexos coloidais (até géis), começando com a associação entre cadeias, e que a presença de proteínas pode influenciar no processo.

Diante dessas informações, sugere-se que, ao aumentar o teor de tripolifosfato de sódio nos bagaços de malte, o meio pode ter ficado saturado, iniciando o processo

de reticulação das cadeias, onde a presença de proteínas, mesmo diminuída pelo pré-tratamento, pode ter influenciado. Outro indício é o valor de cinzas que aumentou, sugerindo que, apesar da lavagem após a modificação, a saturação do meio não utilizou todo o fósforo para reação.

Para o bagaço de mandioca (Tabela 11), foi possível observar que houve diferença na formação de grupos carboxílicos ao variar a concentração de reagente, onde em altas concentrações (5%) o bagaço foi mais susceptível à oxidação. Diferenças no conteúdo de carboxila podem ocorrer de acordo com a origem botânica do bagaço, tipo de agente oxidante e condições de reação (SANGSEETHONG; TERMVEJSAYANON; SRIROTH, 2010).

Tabela 11. Avaliação da eficiência da modificação por oxidação com hipoclorito de sódio e fosfatação com tripolifosfato de sódio em bagaço de mandioca.

Tratamentos	Carboxila (%)	Carbonila (%)	Cinzas (%)	Fósforo (%)	Fosfato (%)
CO1	0,100 ± 0,01 ^b	0,056 ± 0,02 ^a	-	-	-
CO2	0,128 ± 0,01 ^{ab}	0,062 ± 0,01 ^a	-	-	-
CO5	0,156 ± 0,01 ^a	0,062 ± 0,01 ^a	-	-	-
CF3	-	-	1,16 ± 0,02 ^c	0,053 ± 0,00 ^c	0,122 ± 0,00 ^c
CF9	-	-	1,60 ± 0,04 ^b	0,111 ± 0,01 ^b	0,255 ± 0,01 ^b
CF15	-	-	2,16 ± 0,06 ^a	0,206 ± 0,00 ^a	0,471 ± 0,01 ^a
CN	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00	4,02 ± 0,02	0,002 ± 0,00	0,005 ± 0,00
CT	0,000 ± 0,00	0,000 ± 0,00	1,53 ± 0,02	0,001 ± 0,00	0,003 ± 0,00

*Médias ± desvios padrões das determinações em triplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas correspondentes a mesma avaliação não difere pelo teste *Tukey* ($p > 0,05$).

O teor de grupos carboxilas variou de 0,100% (CO1) a 0,156% (CO5). Já para a formação de grupos carbonilas, os bagaços não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$). Dias et al. (2011) conseguiram formação de grupos carboxílicos variando entre 0,03% a 0,25% em amido de mandioca. Os mesmos autores encontraram teores de carbonila variando entre 0,02% a 0,25%. A partir disso, pode-se notar que a concentração de reagente está diretamente ligada a eficiência da oxidação.

Uma característica marcante dos compostos oxidados é o seu caráter aniônico (YING et al., 2019). Baseado nisso, por possuírem cargas negativas, acredita-se que os grupamentos carboxílicos formados durante a oxidação podem reagir com alguns aminoácidos das proteínas, formando ligações e promovendo sua precipitação.

A partir da porcentagem de radicais carboxílicos formados, o bagaço obtido pode ser chamado de oxidado ou branqueado. Segundo Chen, Kaur e Singh (2017),

os compostos branqueados contêm menos de 0,1% de radicais carboxílicos adicionados, mostrando que as condições de oxidação utilizadas foram brandas.

Ao observar as amostras fosfatadas de bagaço de mandioca, percebeu-se que o teor de fósforo residual e grupos fosfatos foram superiores ao da amostra nativa e pré-tratada, indicando que o processo foi efetivo para promover a ligação do fosfato com os bagaços (OLIVEIRA, 2015).

As porcentagens de fósforo identificadas variaram de 0,053% a 0,206%. Em outros estudos, também foi relatada efetividade na modificação, no entanto não atingiram resultados semelhantes. Oliveira (2015) fosfatou amidos de milho e mandioca em concentrações de 2,8% e 8,6% de tripolifosfato de sódio e conseguiu teores de fósforo de 0,014 a 0,072%. Em outro estudo, Batista, Silva e Liberato (2010) modificaram amido de milho e trigo utilizando diferentes concentrações de tripolifosfato de sódio (2,5; 5; 10 e 15%), e obtiveram resultado entre 0,005% e 0,10% de fósforo. Em 2015, Zhao e colaboradores modificaram amido de batata doce e conseguiram grau de substituição entre 0,017% e 0,026% de fósforo. Mao, Imtiaz e Zhang (2015), ao estudar o efeito da competição de Ag (I) e Cu (II) na modificação com tripolifosfato de sódio em quitosana, verificaram que é possível incluir grupos fosfatos na cadeia de quitosana, mas que em concentração elevada e com efeito do pH a competição aumenta e desfavorece a reação.

Esta modificação ocorre pela introdução de grupos fosfatos nas cadeias de celulose do bagaço, deixando-o negativamente carregado (KARIM et al., 2007) e causando a repulsão entre as cadeias (MEICZINGER et al., 2005). A fosfatação afeta drasticamente a capacidade coloidal do composto, devido as suas propriedades iônicas (CEREDA, 1983). Sendo assim, sugere-se que os bagaços modificados por fosfatação alcançaram o objetivo de ficar negativamente carregados em diferentes teores, cumprindo os limites estipulados para uso em alimentos.

5.6.2 Influência da modificação dos bagaços por moagem e granulometria

As farinhas obtidas das moagens em moinho de facas e moinho de bolas apresentaram distribuições granulométricas distintas para cada modificação química e fonte botânica. Isto se deve às características estruturais dos bagaços. Os percentuais de moagem em peneiras com diferentes diâmetros estão apresentados

nos Anexos II.1, e nas Tabela 12 e 13 encontram-se a soma de rendimento em moagem grossa e moagem fina.

A moagem é um pré-tratamento físico que tem como principal objetivo reduzir o tamanho das partículas da biomassa lignocelulósica, e aumentar a superfície de contato (ALVES, 2018; LOPES; DEMIATE, 2015). Como a proposta desse estudo é que amostras modificadas de bagaço de malte e de mandioca possam reagir com proteínas do mosto e causar a precipitação das mesmas, é importante que as partículas “clarificantes” apresentem o menor diâmetro possível. Diante disso, fez-se a moagem em moinho de facas e moinho de bolas para obter o maior rendimento desse material. Após o processo, observou-se uma redução significativa na granulometria para ambos os moinhos.

Tabela 12. Avaliação da eficiência da moagem do moinho de facas e moinho de bolas em amostras de bagaço de malte modificados.

Amostras	Moinho de facas		Moinho de bolas	
	Moagem grossa (%)	Moagem fina (%)	Moagem grossa (%)	Moagem fina (%)
MO1	84,94 ± 0,09 ^{a C}	15,06 ± 0,09 ^{b B}	69,25 ± 0,08 ^{b C}	30,75 ± 0,08 ^{a A}
MO2	86,77 ± 0,01 ^{a A}	13,23 ± 0,01 ^{b D}	74,06 ± 0,37 ^{b B}	25,94 ± 0,37 ^{a B}
MO5	84,63 ± 0,06 ^{a C}	15,37 ± 0,06 ^{a B}	79,28 ± 2,15 ^{a A}	20,72 ± 2,15 ^{a C}
MF3	86,31 ± 0,04 ^{a B}	13,69 ± 0,04 ^{b C}	78,35 ± 0,19 ^{b A}	21,65 ± 0,19 ^{a C}
MF9	83,68 ± 0,25 ^{a D}	16,32 ± 0,25 ^{b A}	69,90 ± 0,02 ^{b C}	30,10 ± 0,02 ^{a A}
MF15	83,95 ± 0,00 ^{a D}	16,05 ± 0,00 ^{b A}	67,73 ± 0,21 ^{b C}	32,27 ± 0,21 ^{a A}

* Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas correspondentes ao mesmo tipo de moagem não difere pelo teste de *T-Student* ($p > 0,05$).

** Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas correspondentes ao mesmo tipo de moagem não difere pelo teste *Tukey* ($p > 0,05$).

Para o bagaço de malte, na moagem grossa, o moinho de facas obteve maior percentual de partículas. O contrário foi observado na moagem fina, que teve maior rendimento no moinho de bolas, exceto pela amostra MO5 que não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$), em ambos os casos.

As amostras MF9 e MF15 apresentaram maior produção de partículas finas. Apesar do moinho de bolas demandar mais tempo de tratamento e gasto de energia, foi mais eficiente. Os resultados demonstram que o bagaço de malte apresenta alta resistência a moagem (moinho de facas), e somente com moagem prolongada foi possível obter maior rendimento. Um comportamento parecido foi obtido nos estudos de Zakaria et al. (2014).

O bagaço de mandioca (Tabela 13), ao ser submetido a modificação química por oxidação, absorveu elevada quantidade de solução, apresentando alta viscosidade. Esse comportamento foi percebido em todas as concentrações de reagente, sendo que a viscosidade aumentou na mesma proporção de adição de hipoclorito de sódio. Após a separação da fração líquida e secagem das amostras, foi obtido um material com alta dureza, dificultando o processo de moagem e obtenção de partículas com diâmetros menores. Esse comportamento refletiu nos resultados, onde pode-se observar um alto rendimento na moagem grossa e baixo rendimento na moagem fina nos dois moinhos, não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$).

Tabela 13. Avaliação da eficiência da moagem do moinho de facas e moinho de bolas em amostras de bagaço de mandioca modificados.

Amostras	Moinho de facas		Moinho de bolas	
	Moagem grossa (%)	Moagem fina (%)	Moagem grossa (%)	Moagem fina (%)
CO1	87,54 ± 0,20 ^{b A}	12,46 ± 0,20 ^{a C}	93,08 ± 0,01 ^{a A}	6,92 ± 0,01 ^{b F}
CO2	87,76 ± 0,16 ^{a A}	12,24 ± 0,16 ^{a C}	87,71 ± 0,02 ^{a C}	12,29 ± 0,02 ^{a D}
CO5	89,12 ± 0,10 ^{a A}	10,88 ± 0,10 ^{a C}	89,98 ± 0,10 ^{a B}	10,02 ± 0,10 ^{a E}
CF3	66,75 ± 1,03 ^{b B}	33,25 ± 1,03 ^{a B}	76,70 ± 0,06 ^{a F}	23,30 ± 0,06 ^{b A}
CF9	67,27 ± 0,10 ^{b B}	32,73 ± 0,10 ^{a B}	79,85 ± 0,00 ^{a D}	20,15 ± 0,00 ^{b C}
CF15	63,23 ± 0,10 ^{b C}	36,77 ± 0,10 ^{a A}	79,31 ± 0,09 ^{a E}	20,69 ± 0,09 ^{b B}

* Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas correspondentes a mesma avaliação não difere pelo teste de *T-Student* ($p > 0,05$).

** Médias ± desvios padrões das determinações em duplicata seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas correspondentes a mesma avaliação não difere pelo teste *Tukey* ($p > 0,05$).

Para as amostras modificadas por fosfatação, é possível observar que o rendimento em partículas finas em moinho de facas foi maior, onde o bagaço de mandioca obteve elevados percentuais, comparado com as outras amostras. Isso ocorreu porque essa modificação é feita com baixa umidade, não resultando no empedramento do material (como no caso da oxidação).

As farinhas obtidas das moagens apresentaram granulometrias diferentes ($p < 0,05$) ao variar a concentração e tipo de reagente. Isto refere-se aos comportamentos intrínsecos dos bagaços durante o processo de modificação. Os pesquisadores Zakaria et al. (2014), Falls et al. (2019) e Liu et al. (2013) obtiveram comportamentos parecidos, em que o processo de moagem foi influenciado pelo material estudado e a obtenção de melhores resultados ocorreu com partículas menores.

5.6.3 Análise de Cor

A colorimetria indica a luminosidade e a cor predominante nas amostras, verificados a partir do parâmetro L^* que varia do preto ao branco, enquanto que o parâmetro a^* indica oscilação entre as cores vermelho e verde, e o b^* alterna entre as cores amarelo e azul. Os parâmetros coletados estão dispostos nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14. Avaliação colorimétrica das amostras de bagaço de malte oxidados e fosfatados.

Amostras	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
MO1	$60,62 \pm 0,19^c$	$7,60 \pm 0,11^b$	$25,70 \pm 0,15^c$	$28,90 \pm 0,41^c$	$73,32 \pm 0,88^a$
MO2	$65,14 \pm 0,49^b$	$7,62 \pm 0,15^b$	$28,04 \pm 0,22^b$	$31,27 \pm 0,49^b$	$74,38 \pm 0,89^a$
MO5	$68,34 \pm 0,09^a$	$7,70 \pm 0,05^b$	$29,79 \pm 0,11^a$	$33,11 \pm 0,36^a$	$75,04 \pm 0,79^a$
MF3	$56,37 \pm 0,18^e$	$8,23 \pm 0,16^a$	$24,00 \pm 0,16^e$	$27,42 \pm 0,24^d$	$71,63 \pm 0,68^b$
MF9	$57,46 \pm 0,06^d$	$8,39 \pm 0,22^a$	$23,88 \pm 0,47^e$	$27,30 \pm 0,79^d$	$71,18 \pm 0,92^b$
MF15	$60,12 \pm 0,13^c$	$8,51 \pm 0,05^a$	$25,03 \pm 0,06^d$	$28,56 \pm 0,31^{cd}$	$71,68 \pm 0,79^b$

*Médias $\pm$ desvios padrões das determinações em triplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas correspondentes a mesma avaliação não difere pelo teste *Tukey* ($p > 0,05$).

Os bagaços de malte apresentaram tendência de aumento de luminosidade ao adicionar reagente nas modificações realizadas com hipoclorito de sódio e tripolifosfato de sódio ($p < 0,05$). Observou-se que a oxidação resulta em materiais com maior luminosidade, comparados com as amostras fosfatadas. Segundo Chen, Kaur e Singh (2017), isso ocorre porque os bagaços sofrem um processo de branqueamento. Notou-se também que o processo de oxidação proporciona bagaços mais saturados e com tonalidade mais intensa que a fosfatação.

Tabela 15. Avaliação colorimétrica das amostras de bagaço de mandioca oxidados e fosfatados.

Amostras	L^*	a^*	b^*	C^*	h^*
CO1	$74,89 \pm 0,06^c$	$6,27 \pm 0,02^c$	$26,43 \pm 0,13^a$	$29,33 \pm 0,12^b$	$75,64 \pm 0,83^a$
CO2	$78,50 \pm 0,13^b$	$5,85 \pm 0,05^d$	$26,05 \pm 0,10^b$	$28,83 \pm 0,11^b$	$76,20 \pm 0,77^a$
CO5	$79,35 \pm 0,13^a$	$4,72 \pm 0,05^e$	$23,98 \pm 0,03^d$	$26,37 \pm 0,20^c$	$77,33 \pm 0,75^a$
CF3	$64,78 \pm 0,16^e$	$9,05 \pm 0,10^b$	$25,21 \pm 0,10^c$	$28,97 \pm 0,37^b$	$70,86 \pm 0,85^b$
CF9	$64,91 \pm 0,11^e$	$9,41 \pm 0,09^b$	$26,25 \pm 0,06^{ab}$	$30,14 \pm 0,35^a$	$70,93 \pm 0,78^b$
CF15	$65,55 \pm 0,20^d$	$9,11 \pm 0,09^a$	$26,25 \pm 0,16^{ab}$	$30,06 \pm 0,30^a$	$71,42 \pm 0,71^b$

*Médias $\pm$ desvios padrões das determinações em triplicata seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas correspondentes a mesma avaliação não difere pelo teste *Tukey* ($p > 0,05$).

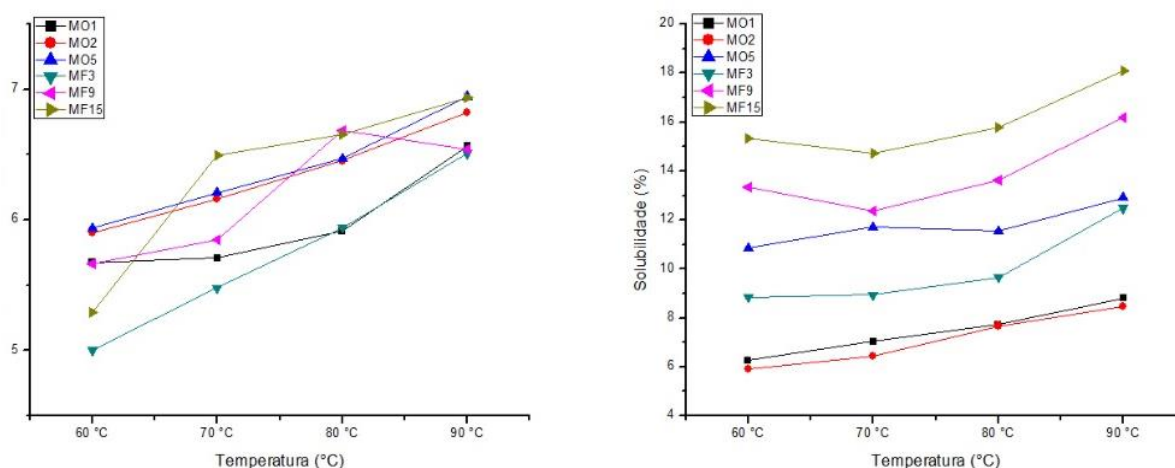
Os bagaços de mandioca modificados variaram no parâmetro L^* de 64,78 a 79,35, onde a fosfatação apresentou amostras mais escuras, possivelmente pelo

processo de aquecimento em estufa para a obtenção de grupamentos fosfato. As amostras oxidadas e fosfatadas apresentaram valores de a^* e b^* positivos, demonstrando que as amostras tendem ao vermelho e amarelo, sendo que a fosfatação apresenta a^* com maior intensidade.

5.6.4 Solubilidade e poder de inchamento

A formação de gel e a capacidade de absorver água de materiais fibrosos podem ser avaliados pela análise de poder de inchamento e solubilidade. Diante disso, estão apresentados na Figura 25 e 26 e Anexos II.2, II.3, II.4 e II.5 o comportamento das amostras de bagaço de malte e de mandioca modificadas.

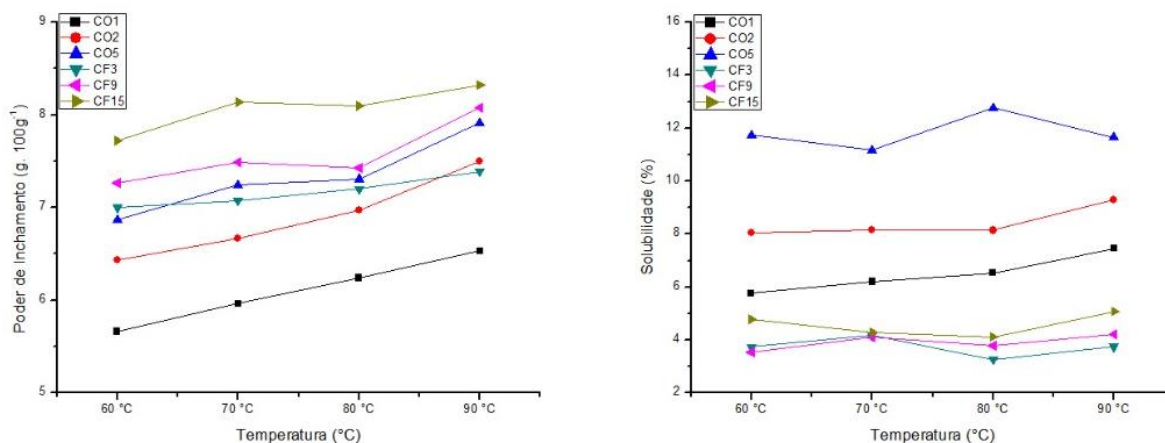
Figura 25. Poder de inchamento (A) e solubilidade (B) dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.



Os resultados de poder de inchamento obtidos nos bagaços de malte modificados evidenciaram baixa capacidade de absorver água, pois mesmo em temperatura de 90 °C os valores encontrados oscilaram de 6,51 a 6,95 (g/100) ($p > 0,05$), onde não houve formação de gel. Apesar disso, foi constatado que em temperaturas entre 60 e 70 °C todas as amostras apresentaram inchamento mais baixo e, após 80 °C, não ocorreu absorção significativa de água ($p > 0,05$). Travalini e colaboradores (2019) encontraram valores que chegam a 69,55% ao estudar a incorporação de bagaço em filmes de mandioca. A solubilidade aumentou com a incorporação de reagente em ambas as modificações, em que os valores mais altos

foram alcançados a 90 °C, com variações entre 8,48 a 18,08%. As amostras fosfatadas apresentaram solubilidade maior do que as amostras oxidadas.

Figura 26. Poder de inchamento (A) e solubilidade (B) dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.



Em amostras de bagaço de mandioca foram encontrados valores baixos de poder de inchamento e solubilidade, que demonstram baixa afinidade com a água, sendo que CO1 apresentou menor valor em todas as temperaturas testadas ($p < 0,05$). Para as modificações, percebeu-se que o aumento de agentes químicos influencia na capacidade de absorver água ($p < 0,05$), sugerindo que as modificações realizadas aumentaram levemente a interação dos grupos hidroxila da celulose com as moléculas de água (HALAL et al., 2018). A fosfatação diminuiu drasticamente a solubilidade em água, podendo influenciar em aplicações que dependem de valores mais altos deste parâmetro.

5.6.5 Termogravimetria (TG)

Os dados de degradação térmica das fibras modificadas por oxidação e fosfatação estão apresentados nas Tabelas 16 e 17.

Verificou-se na análise de TG que a perda de massa dos compósitos ocorreu em quatro estágios, sendo o primeiro entre 50-180 °C correspondente a perda de umidade do material e o segundo estágio entre 320 e 340 °C atribuída a clivagem de ligações glicosídicas da celulose (TRAVALINI et al., 2019). A terceira fase representa a lignina, que é o componente mais difícil de decompor, em comparação com as

hemiceluloses e a celulose. Embora sua decomposição inicie em torno de 160 °C, a maior perda de massa ocorre em taxas elevadas de temperatura. Isso se explica pelo fato da lignina ser muito resistente, conhecido por conferir rigidez aos materiais vegetais. O componente que resta é um material inorgânico, que pode ser considerado como cinza. Materiais inorgânicos na fibra, só podem ser decompostos em temperaturas muito altas (EDHIREJ et al., 2017).

Tabela 16. Picos termogravimétricos dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.

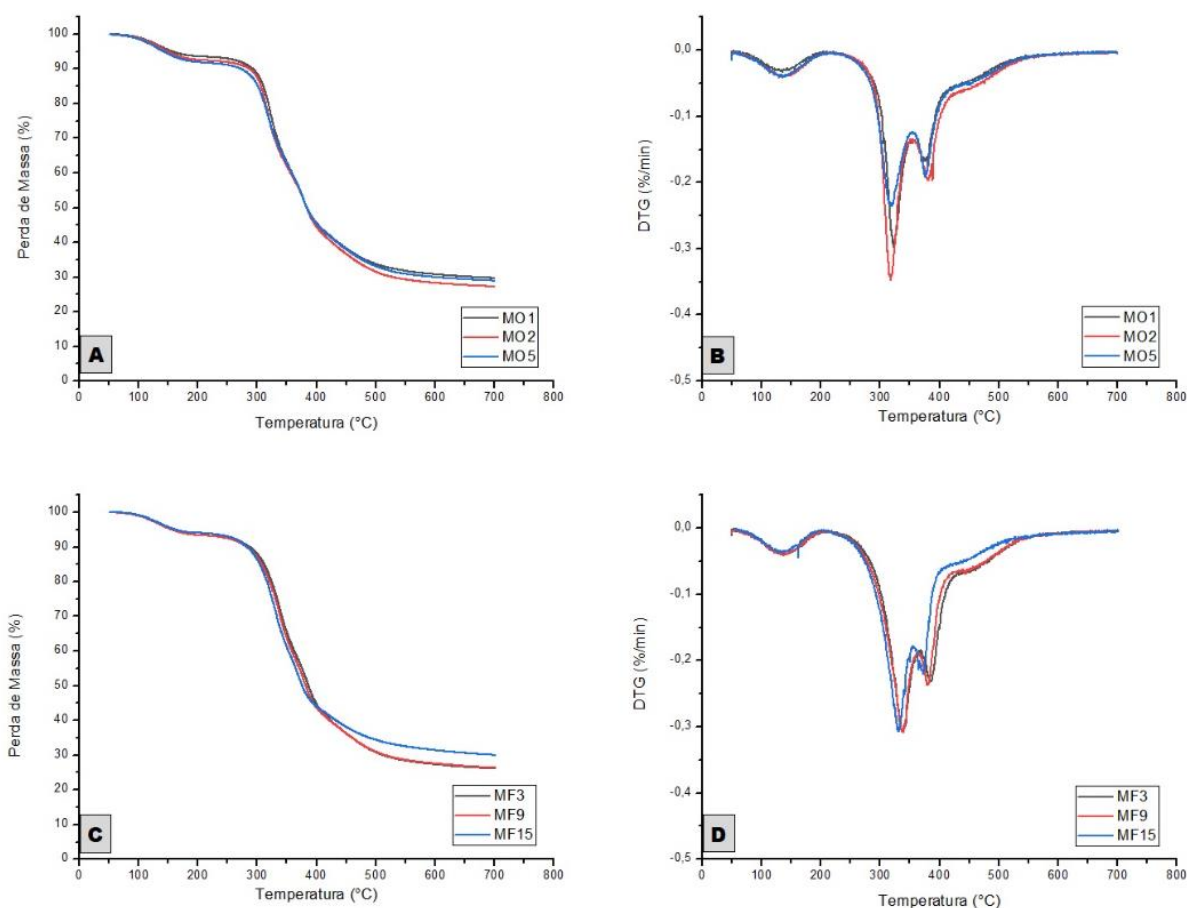
Amostras	Picos TG-DTG					% Resíduo
	Pico 1	Estabilidade	Pico 2	Pico 3	Pico 4	
MO1						
Θ/°C	52-180	180-279	279-355	355-423	423-505	
Tp/°C	134,63	-	323,63	377,72	454,74	
Δm/%	6,01	-	30,06	19,44	8,35	29,74
MO2						
Θ/°C	52-180	180-279	279-355	355-426	426-525	
Tp/°C	129,77	-	317,50	381,04	463,74	
Δm/%	6,88	-	30,14	20,47	9,85	27,28
MO5						
Θ/°C	52-180	180-275	275-357	357-423	423-512	
Tp/°C	131,77	-	318,11	376,03	466,42	
Δm/%	7,51	-	29,22	19	9,24	28,98
MF3						
Θ/°C	52-180	180-265	265-367	367-431	431-537	
Tp/°C	132,62	-	336,80	386,07	462,45	
Δm/%	6,20	-	33,40	19,43	10,08	26,13
MF9						
Θ/°C	52-180	180-264	264-366	366-428	428-537	
Tp/°C	138,13	-	336,06	381,55	471,32	
Δm/%	6,19	-	34,71	17,67	10,19	26,37
MF15						
Θ/°C	52-180	180-255	255-357	357-410	410-504	
Tp/°C	127,55	-	330,82	372,87	444,76	
Δm/%	5,67	-	34,38	15,43	6,85	29,99

Θ, Variação de temperatura; T_p, temperatura de pico; Δm, perda de massa.

A Figura 27 mostra o comportamento térmico do bagaço de malte, que ao ser modificado com hipoclorito de sódio, quando em baixa concentração, apresenta ligeira perda de massa, mas ao aumentar a concentração de reagente para 2% exibe um segundo pico mais agudo e em temperatura mais baixa, sugerindo maior pureza da celulose e redução da estabilidade térmica. Por outro lado, ao oxidar o material com maior concentração de reagente, observou-se que a celulose tende a ficar mais amorfa, ocorrendo a diminuição do terceiro pico e demonstrando que houve maior

degradação da lignina. Sob outra perspectiva, ao modificar o material com tripolifosfato de sódio, notou-se que, em elevadas concentrações, a temperatura dos picos e a perda de massa diminuiu, sugerindo que os compostos tendem a ficar amorfos e mais estáveis termicamente.

Figura 27. Picos TG e DTG dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.



A análise termogravimétrica (TG) foi realizada em bagaços modificados de mandioca para verificar a presença de componentes orgânicos e avaliar a quantidade de material inorgânico. Uma primeira etapa, até cerca de 180 °C, corresponde a uma perda máxima de peso de 10% e é seguida por uma segunda fase com até 70 % em perda de massa, em cerca de 450 °C. A terceira etapa se estende até à temperatura de teste final habitual em aproximadamente 550 °C, restando um material inorgânico, que pode ser considerado como cinza (SAEED; SALEEM; DURRANI, 2020). Os resultados estão apresentados na Tabela 17.

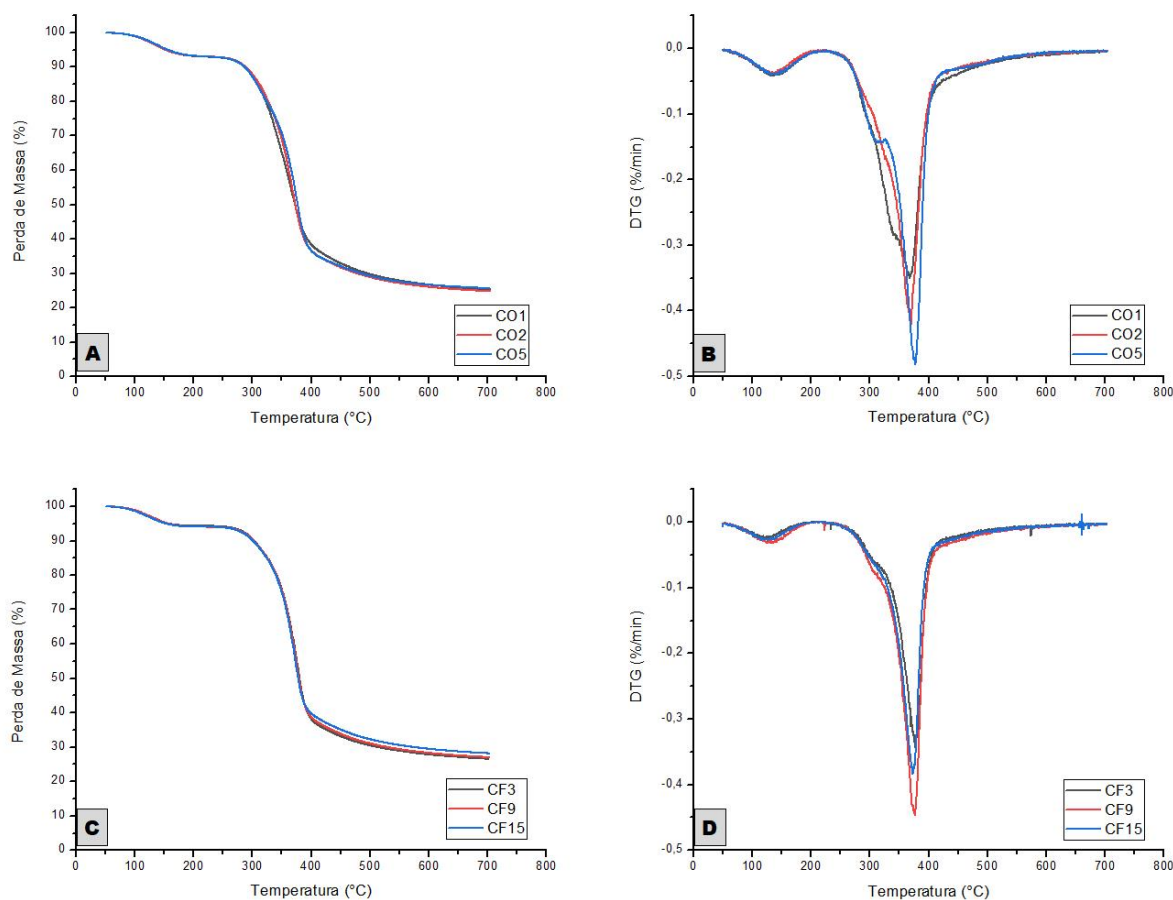
Tabela 17. Picos termogravimétricos dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.

Amostras	Picos TG-DTG			% Resíduo
	Pico 1	Estabilidade	Pico 2	
CO1				
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-273	273-440	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	137,07	-	368,49	
$\Delta m/\%$	6,38	-	58,05	25,27
CO2				
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-275	275-435	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	129,69	-	367,53	
$\Delta m/\%$	6,40	-	58,53	24,77
CO5				
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-273	273-438	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	140,01	-	376,48	
$\Delta m/\%$	6,23	-	58,78	25,61
CF3				
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-285	283-430	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	120,01	-	377,19	
$\Delta m/\%$	5,49	-	57,68	26,62
CF9				
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-282	280-433	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	125,04	-	375,05	
$\Delta m/\%$	5,74	-	58,53	27,01
CF15				
$\Theta/^{\circ}\text{C}$	52-180	180-283	282-435	
$T_p/^{\circ}\text{C}$	126,33	-	373,13	
$\Delta m/\%$	5,75	-	57,13	28,18

Θ , Variação de temperatura; T_p , temperatura de pico; Δm , perda de massa.

A degradação térmica dos bagaços de mandioca modificados, apresentados pelas curvas DTA (Figura 28), indicou dois picos para todas as amostras. Uma perda inicial de peso foi observada em temperaturas entre 50 e 180 °C, o que corresponde à eliminação da água e dos compostos de baixo peso molar presentes (TRAVALINI et al., 2019). Após, foi observado o segundo pico, entre 360 a 380 °C, referente à perda de massa da celulose presente no material. Para as amostras oxidadas, foi constatado que o aumento de reagente delineou picos mais agudos e com temperatura mais elevada, sugerindo celulose mais cristalina e com mais estabilidade térmica. Já para as amostras fosfatadas, o incremento de agente modificador diminuiu ligeiramente a temperatura de pico, demonstrando que a estabilidade térmica foi reduzida.

Figura 28. Picos TG e DTG dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.



5.6.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC são formadas a partir do aquecimento do material, em que ocorre a absorção ou liberação de energia térmica, provocando uma série de reações endotérmicas e exotérmicas. Fusão de compostos, mudança de fase, evaporação, desidratação e pirólise são evidências obtidas por picos endotérmicos. Já as reações exotérmicas explicam a cristalização, oxidação, combustão e decomposição (RANGASAMY Et al., 2021). Os resultados obtidos encontram-se expostos na Tabela 18 e os termogramas das diferentes orientações dos corpos de prova preparados são mostrados em anexo (II.6).

Tabela 18. Curvas de DSC dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.

Pico	Amostras	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)
1	MO1	115,05 ± 0,22 ^d	126,17 ± 0,25 ^c	141,64 ± 0,06 ^c	26,60	43,55 ± 0,06 ^d
	MO2	118,37 ± 0,40 ^{cd}	129,63 ± 0,00 ^c	144,22 ± 1,68 ^c	25,85	36,07 ± 0,35 ^e
	MO5	122,19 ± 1,23 ^{bc}	136,08 ± 1,24 ^{bc}	149,99 ± 0,11 ^c	27,80	48,01 ± 0,12 ^c
	MF3	125,81 ± 2,02 ^b	144,19 ± 5,32 ^b	161,58 ± 3,81 ^b	35,77	61,34 ± 0,92 ^a
	MF9	140,64 ± 0,88 ^a	157,11 ± 2,35 ^a	175,12 ± 2,47 ^a	34,48	55,92 ± 1,11 ^b
	MF15	125,13 ± 3,27 ^b	144,45 ± 4,55 ^b	166,05 ± 3,53 ^{ab}	40,92	57,02 ± 0,46 ^b
2	MO1	244,34 ± 1,72 ^a	268,57 ± 2,78 ^b	289,33 ± 0,52 ^c	45,00	-96,87 ± 0,34 ^d
	MO2	228,38 ± 2,09 ^b	257,10 ± 0,37 ^c	280,98 ± 1,11 ^d	35,76	-132,02 ± 0,93 ^e
	MO5	230,97 ± 1,19 ^b	253,64 ± 0,04 ^c	280,87 ± 0,01 ^d	49,90	-51,83 ± 0,09 ^a
	MF3	245,59 ± 0,11 ^a	276,08 ± 0,12 ^a	302,56 ± 0,16 ^a	56,97	-90,04 ± 0,82 ^c
	MF9	246,23 ± 0,12 ^a	273,64 ± 1,66 ^{ab}	297,31 ± 2,10 ^b	51,08	-88,48 ± 0,14 ^c
	MF15	247,29 ± 1,77 ^a	273,10 ± 0,26 ^{ab}	297,53 ± 0,64 ^b	50,24	-82,53 ± 0,44 ^b
3	MO1	319,36 ± 0,53 ^b	339,34 ± 1,73 ^{bc}	354,65 ± 0,29 ^{ab}	35,29	-31,11 ± 0,10 ^d
	MO2	319,68 ± 0,88 ^b	341,60 ± 0,60 ^{abc}	355,59 ± 0,35 ^{ab}	35,92	-20,64 ± 1,18 ^c
	MO5	314,89 ± 0,29 ^c	330,73 ± 0,08 ^d	344,88 ± 0,11 ^c	30,00	-19,29 ± 2,17 ^{bc}
	MF3	330,37 ± 0,22 ^a	345,69 ± 0,00 ^a	359,54 ± 0,90 ^a	29,17	-19,95 ± 0,97 ^c
	MF9	330,05 ± 0,13 ^a	342,34 ± 1,89 ^{ab}	352,81 ± 3,63 ^b	22,77	-10,74 ± 0,26 ^a
	MF15	319,60 ± 1,31 ^b	337,57 ± 0,12 ^c	353,85 ± 0,48 ^{ab}	34,26	-14,86 ± 1,44 ^{ab}

T₀, T_p, T_c = temperaturas de início, pico e conclusão, ΔT: T_c – T₀. ΔH= variação de entalpia.

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

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

A partir dos resultados obtidos nas amostras de bagaço de malte modificados por oxidação e fosfatação, foi possível observar a formação de três picos, sendo um endotérmico e dois exotérmicos. O primeiro pico variou de 126 a 157 °C, estando este relacionado ao calor necessário para evaporar a água das amostras. Apesar destas estarem secas no momento da análise, a total eliminação da água é dificultada, concordando com Rangasamy et al. (2021), que indicaram a ocorrência deste evento em seu estudo.

O segundo pico foi observado por reação exotérmica na faixa entre 250 a 277 °C, demonstrando que a fosfatação não influenciou na temperatura de pico e, somente em concentração mais alta, a variação de entalpia passou a diminuir. Um comportamento diferente foi verificado nas amostras oxidadas, pois a partir de 2% de concentração de hipoclorito, percebeu-se a diminuição significativa da temperatura de pico, e o valor máximo de variação de entalpia, sugerindo uma degradação oxidativa extrema. O pico formado na faixa de 340 °C pode estar relacionado com a degradação de ligninas, validando os resultados termogravimétricos.

Para as amostras de bagaço de mandioca modificados por oxidação e fosfatação (Tabela 19), verificou-se a formação de dois picos endotérmicos, sendo o

primeiro na faixa entre 130 a 146 °C, concordando com Travalini et al (2019), que relaciona este comportamento à vaporização de água e dos compostos de baixo peso molecular presentes.

Tabela 19. Curvas de DSC dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.

Pico	Amostras	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _c (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)
1	CO1	118,02 ± 1,13 ^{ab}	137,94 ± 1,05 ^{abc}	160,66 ± 3,10 ^{ab}	42,64	51,85 ± 0,14 ^b
	CO2	112,91 ± 4,74 ^b	130,56 ± 4,01 ^c	151,63 ± 1,41 ^b	38,72	50,64 ± 0,65 ^b
	CO5	125,66 ± 2,38 ^a	146,23 ± 0,95 ^a	168,20 ± 0,19 ^a	42,54	41,03 ± 1,26 ^c
	CF3	123,13 ± 2,42 ^{ab}	143,26 ± 0,24 ^{ab}	165,34 ± 2,88 ^a	42,21	55,76 ± 0,12 ^a
	CF9	122,56 ± 4,17 ^{ab}	143,27 ± 2,11 ^{ab}	166,25 ± 3,18 ^a	43,69	50,23 ± 0,31 ^b
	CF15	118,13 ± 1,84 ^{ab}	135,08 ± 2,16 ^{bc}	154,11 ± 1,64 ^b	35,98	50,74 ± 0,34 ^b
2	CO1	316,10 ± 1,83 ^c	340,70 ± 0,40 ^d	368,39 ± 0,66 ^c	52,29	43,34 ± 0,06 ^c
	CO2	307,20 ± 0,57 ^d	337,72 ± 0,01 ^e	371,48 ± 2,84 ^{bc}	64,29	88,71 ± 1,13 ^a
	CO5	334,75 ± 1,83 ^b	356,31 ± 0,23 ^c	376,27 ± 0,23 ^b	41,52	32,58 ± 0,62 ^d
	CF3	340,04 ± 0,09 ^a	359,94 ± 0,09 ^a	386,95 ± 0,49 ^a	46,92	63,14 ± 0,75 ^b
	CF9	338,01 ± 0,01 ^{ab}	358,02 ± 0,68 ^b	390,11 ± 2,09 ^a	52,11	63,17 ± 1,04 ^b
	CF15	336,85 ± 0,25 ^{ab}	356,79 ± 0,06 ^{bc}	385,14 ± 0,30 ^a	48,29	64,06 ± 0,19 ^b

T₀, T_p, T_c = temperaturas de início, pico e conclusão, ΔT: T_c – T₀. ΔH= variação de entalpia.

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

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

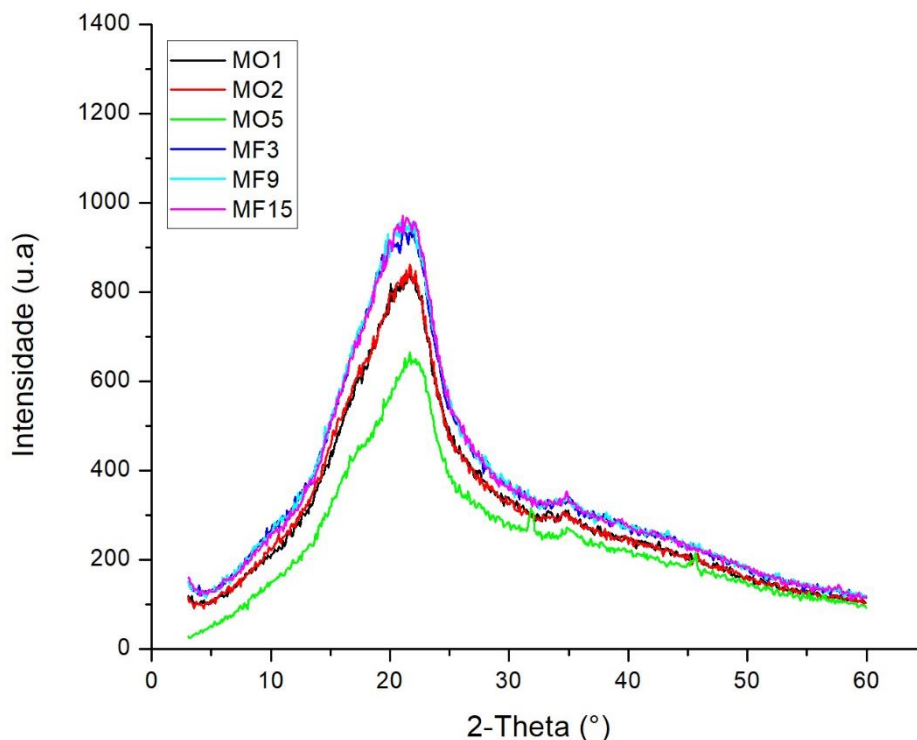
A região entre 170 e 300 °C não apresenta reações exotérmicas ou endotérmicas, revelando compósitos termicamente estáveis. Outro pico endotérmico foi observado entre 337 e 360 °C, em que, para as amostras modificadas por oxidação, a maior concentração de reagente tende ao aumento da temperatura de pico e diminuição da variação de entalpia. Em concentração de 2% de reagente, notou-se o valor máximo de ΔH, sugerindo que, ao adicionar hipoclorito de sódio, as cadeias celulósicas tendem à maior estabilidade térmica, mas, em concentrações extremas, essas cadeias são enfraquecidas e exigem menor entalpia para serem degradadas. Picos nessa faixa de temperatura foram encontrados por Rangasamy et al. (2021) e Edhirej et al. (2017). Para as amostras fosfatadas, pequenas mudanças ocorreram no segundo pico (p ≤ 0,05) e não houve variação de entalpia significativa.

5.6.7 Raio X

A Figura 29 mostra o padrão de difração de raios X para os bagaços de malte oxidados e fosfatados em diferentes concentrações, apresentando uma estrutura

parecida para todas as amostras, em que um pico foi encontrado entre valores de 2θ de $21,45^\circ$ e $21,75^\circ$.

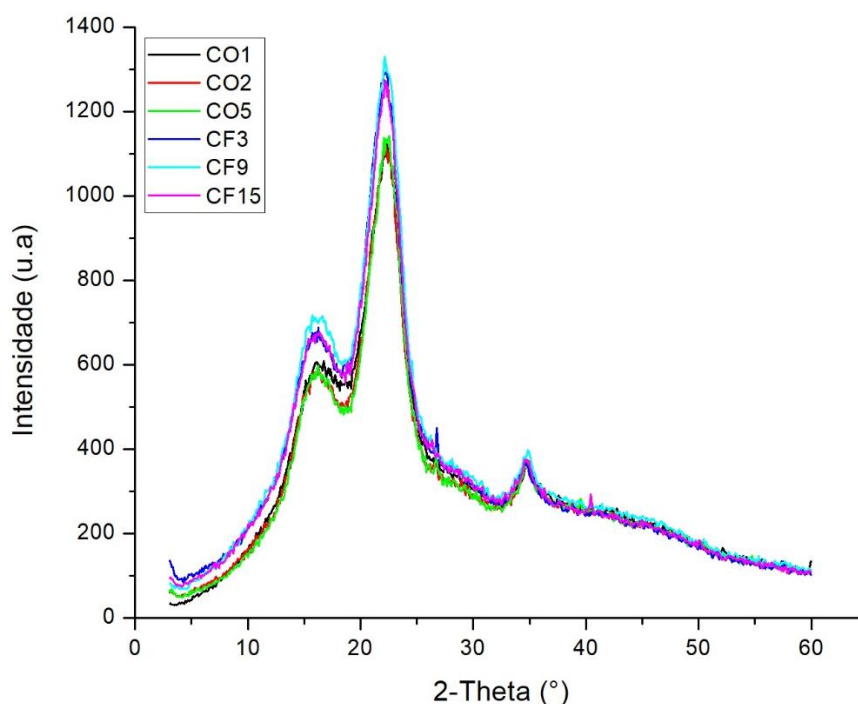
Figura 29. Difratogramas dos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.



Na modificação por oxidação, percebeu-se que, ao adicionar hipoclorito de sódio, o índice de cristalinidade diminuiu, apresentando valores de 39,14%, 38,89% e 29,04%. A configuração de menor intensidade e o pico largo mostram o menor grau de cristalinidade no MO5. Kumar e colaboradores (2019) encontraram uma tendência parecida ao estudar biocompostos de ácido polilático reforçados com fibras de bagaços. Para a modificação por fosfatação foi verificada uma alteração insignificante na intensidade e índice de cristalinidade, obtendo valores de 42% (MF3), 42,31% (MF9) e 42,25% (MF15).

O espectro de Raio X das amostras de bagaço de mandioca modificados é mostrado na Figura 30. As propriedades cristalinas dos compósitos foram estudadas para avaliar a influência da oxidação e fosfatação na morfologia das amostras.

Figura 30. Difratomogramas dos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.



Verificou-se que todas as frações fibrosas modificadas evidenciaram a forma de celulose II, com a presença de dois picos, sendo um de maior intensidade de 22° e outro de menor intensidade de 16° (SANKHLA; SARDAR; NEOGI, 2021). Foi observado um pequeno deslocamento na localização do primeiro pico de CF15 e no segundo pico de CO5. A oxidação diminuiu levemente a intensidade e o índice de cristalinidade, comparando com as amostras fosfatadas que não apresentam variações intensas desse parâmetro.

As modificações do bagaço de mandioca obtiveram índice de cristalinidade que oscilaram entre 28,64% a 33,84%. Travalini e colaboradores (2019) encontraram valor de 31,4% em nanofibras de lignocelulose.

5.7 Conclusões

Os processos de modificações realizados no material fibroso de malte e de mandioca foram efetivos, pois apresentaram um aumento nas proporções de grupos carboxílas, carbolinas e fosfatos, dando características aniônicas aos bagaços.

A incorporação das diferentes concentrações dos reagentes influenciou o comportamento térmico e granulométrico dos compósitos.

Foram obtidos materiais com características específicas a partir das diferentes fontes botânicas, mesmo aplicando condições similares durante as modificações.

Com base no estudo realizado, conclui-se que a modificação química, além de contribuir para a redução da poluição ambiental, possibilita o aproveitamento de subprodutos, ampliando o desenvolvimento de materiais diferenciados e com características apropriadas para aplicações específicas, como a ação clarificante em bebidas ricas em proteínas.

Referências

- ALVES, R. C. **Influência da granulometria do bagaço de cana-de-açúcar na solubilização de hemicelulose e produção de açúcares fermentáveis**. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” - Instituto de Biociências, Rio Claro, 2018.
- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Method 4500-CL). In: **Standard Methods**. 18th. ed. Washington: Copyright, 1998. p. 108–117.
- BATISTA, W. P.; SILVA, C. E. M.; LIBERATO, M. C. Propriedades químicas e de pasta dos amidos de trigo e milho fosforilados. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, 2010.
- BENINCA, C. et al. Thermal behavior of corn starch granules modified by acid treatment at 30 and 50°C. **Ecletica Quimica**, v. 33, n. 3, p. 13–17, 2008.
- BHUMKAR, D. R.; POKHARKAR, V. B. Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: A technical note. **AAPS PharmSciTech**, v. 7, n. 2, p. E138–E143, 2006.
- CARMO, C. A. F. DE S. DO et al. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na embrapa solos**. (Embrapa, Ed.)Análise de teor de fósforo e fosfato. 2000.
- CEREDA, M. P. Determinação de viscosidade da fécula fermentada de mandioca e polvilho azedo. **Boletim da Sociedade de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, p. 15–24, 1983.
- CHEN, H. Biotechnology of lignocellulose: Theory and practice. **Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice**, p. 1–511, 2014.
- CHEN, Y. F.; KAUR, L.; SINGH, J. Chemical Modification of Starch. **Starch in Food: Structure, Function and Applications: Second Edition**, p. 283–321, 2017.
- DIAS, A. R. G. et al. Pasting, expansion and textural properties of fermented cassava starch oxidised with sodium hypochlorite. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 268–275, 2011.
- EDHIREJ, A. et al. Cassava/sugar palm fiber reinforced cassava starch hybrid composites: Physical, thermal and structural properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 75–83, 2017.
- FALLS, M. et al. Mechanical pretreatment of biomass – Part II: Shock treatment. **Biomass and Bioenergy**, v. 126, n. May, p. 47–56, 2019.
- FAO. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 5 fev. 2022.
- FURUSATO, S. et al. Mechanochemical Decomposition of Crystalline Cellulose in the Presence of Protonated Layered Niobium Molybdate Solid Acid Catalyst. **ChemSusChem**, v. 11, n. 5, p. 888–896, 2018.
- GUARÁS, M. P.; LUDUEÑA, L. N.; ALVAREZ, V. A. Development of Biodegradable Products from Modified Starches. In: ELSEVIER (Ed.). **Starch-Based Materials in Food Packaging: Processing, Characterization and Applications**. Argentina. p. 77-124. 2017.
- GUPTA, A. D. et al. Simultaneous oxidation and esterification of cellulose for use in treatment of water containing Cu(II) ions. **Carbohydrate Polymers**, v. 222, n. January, p. 114964, 2019.

- HALAL, S. L. M. EL et al. The properties of potato and cassava starch films combined with cellulose fibers and/or nanoclay. **Starch/Staerke**, v. 70, n. 1–2, p. 1–10, 2018.
- JACOMETTI, G. A. et al. The physicochemical properties of fibrous residues from the agro industry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 138–143, 2015.
- KARIM, A. A. et al. Effects of phosphorus contents on the gelatinization and retrogradation of potato starch. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, p. 132–138, 2007.
- KERR, R. W.; CLEVELANAND, F. C. J. **Process of adding starch phosphates to paper pulp containing titanium dioxide to improve retention thereof**New York, USA, 1964. Disponível em: <<https://patentimages.storage.googleapis.com/c3/48/1b/c42898488bf5d6/US3132066.pdf>>
- KUMAR, M. et al. Accelerated thermal ageing behaviour of bagasse fibers reinforced Poly (Lactic Acid) based biocomposites. **Composites Part B**, v. 156, n. March 2018, p. 121–127, 2019.
- LIU, Z. H. et al. Effects of biomass particle size on steam explosion pretreatment performance for improving the enzyme digestibility of corn stover. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 176–184, 2013.
- LOPES, G. K. P. et al. Steam-activated carbon from malt bagasse : Optimization of preparation conditions and adsorption studies of sunset yellow food dye. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 3, p. 1–8, 2021.
- LOPES, R. B.; DEMIATE, I. M. Avaliação granulométrica de frações constituintes de farinhas de trigo tipo 1 obtidas da moagem industrial de cultivares disponíveis no mercado brasileiro. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 9, n. 1, 2015.
- MAO, C.; IMTIAZ, S. A.; ZHANG, Y. Competitive adsorption of Ag (I) and Cu (II) by tripolyphosphate crosslinked chitosan beads. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 43, p. 1–11, 2015.
- MEICZINGER, M. et al. Investigation of reactions occurring at starch phosphorylation. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 25, p. 9581–9585, 2005.
- NABESHIMA, E. H.; EL-DASH, A. A. Modificação química da farinha de arroz como alternativa para o aproveitamento dos subprodutos do beneficiamento do arroz. **CEPPA**, v. 22, p. 107–120, 2004.
- NARA, S., KOMIYA, T. Studies on the relationship between water-saturation state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Stärke**, p. 407–410, 1983.
- NASUTION, T. I. et al. Sodium tripolyphosphate cross-linked chitosan based sensor for enhancing sensing properties towards acetone. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 309, n. 1, 2018.
- OLIVEIRA, M. DE et al. Preparation and characterization of churro dough with malt bagasse flour. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 27, 2022.
- OLIVEIRA, M. D. DE. **Aplicação de amido modificado no processo de clarificação de cerveja artesanal**. Dissertação de Mestrado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão - PR, 2015.
- POLACHINI, T. C. et al. Water adsorption isotherms and thermodynamic properties of cassava bagasse. **Thermochimica Acta**, v. 632, p. 79–85, 2016.
- RANGASAMY, G. et al. An extensive analysis of mechanical, thermal and physical properties of jute fiber composites with different fiber orientations. **Case Studies in Thermal Engineering**, v. 28, n. September, p. 101612, 2021.
- RAUD, M. et al. Potentials and challenges in lignocellulosic biofuel production technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 111, n. July 2018, p. 44–56, 2019.
- SACCO, P. et al. Insight into the ionotropic gelation of chitosan using tripolyphosphate and pyrophosphate as cross-linkers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 476–483, 2016.
- SAEED, S.; SALEEM, M.; DURRANI, A. Thermal performance analysis of sugarcane bagasse pretreated by ionic liquids. **Journal of Molecular Liquids**, v. 312, p. 113424, 2020.
- SAINI, J. K.; SAINI, R.; TEWARI, L. Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for

second-generation bioethanol production: concepts and recent developments. **3 Biotech**, v. 5, n. 4, p. 337–353, 2015.

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

SANGSEETHONG, K.; TERMVEJSAYANON, N.; SRIROTH, K. Characterization of physicochemical properties of hypochlorite- and peroxide-oxidized cassava starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 2, p. 446–453, 2010.

SANKHLA, S.; SARDAR, H. H.; NEOGI, S. Greener extraction of highly crystalline and thermally stable cellulose micro-fibers from sugarcane bagasse for cellulose nano-fibrils preparation. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, n. July 2020, p. 117030, 2021.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e Caracterização de um Isolado Proteico de Soja Modificado com Perfil de Solubilidade da Caseína do Leite Humano**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

TRAVALINI, A. P. **Extração, modificação e aplicação da fibra do bagaço de mandioca (Manihot esculenta Crantz)**. Ponta Grossa - PR: Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, 2015.

TRAVALINI, A. P. et al. Cassava starch films reinforced with lignocellulose nanofibers from cassava bagasse. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 1151–1161, 2019.

VANIER, N. L. et al. Physicochemical, crystallinity, pasting and morphological properties of bean starch oxidised by different concentrations of sodium hypochlorite. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1255–1262, 2012.

YING, W. et al. The sequential Fenton oxidation and sulfomethylation pretreatment for alleviating the negative effects of lignin in enzymatic saccharification of sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v. 286, n. April, p. 121392, 2019.

ZABED, H. et al. Bioethanol production from renewable sources: Current perspectives and technological progress. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 71, n. October 2015, p. 475–501, 2017.

ZAKARIA, M. R. et al. Ball milling pretreatment of oil palm biomass for enhancing enzymatic hydrolysis. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 173, n. 7, p. 1778–1789, 2014.

ZENATTI, D. C. et al. Quantificação de açúcares redutores em hidrolisado do bagaço da mandioca para uso na produção de metano. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 4, n. 2238–8753, p. 616–627, 2015.

ZHAO, J. et al. Level and position of substituents in cross-linked and hydroxypropylated sweet potato starches using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, p. 424–431, 2015.

ANEXOS II

Anexo II.1. Moagem em moinho de facas e bolas e rendimento granulométrico das amostras de bagaço de malte e mandioca modificadas.

Moinho de facas	Mesh das peneiras (% de rendimento)						
	0,177	0,149	0,125	0,105	0,088	0,044	Fundo
MO1	73,42 ± 0,02	10,32 ± 0,16	1,20 ± 0,05	8,67 ± 0,08	0,90 ± 0,01	3,67 ± 0,04	1,82 ± 0,05
MO2	77,10 ± 0,03	8,30 ± 0,04	1,36 ± 0,02	7,83 ± 0,01	0,78 ± 0,03	2,81 ± 0,04	1,82 ± 0,02
MO5	74,28 ± 0,04	8,72 ± 0,02	1,63 ± 0,04	8,58 ± 0,02	0,83 ± 0,03	3,26 ± 0,05	2,70 ± 0,02
MF3	76,65 ± 0,05	8,28 ± 0,03	1,37 ± 0,04	7,46 ± 0,01	0,61 ± 0,04	3,45 ± 0,09	2,17 ± 0,08
MF9	72,44 ± 0,20	9,48 ± 0,08	1,75 ± 0,04	8,51 ± 0,01	1,09 ± 0,06	4,10 ± 0,03	2,63 ± 0,15
MF15	73,81 ± 0,00	9,28 ± 0,03	0,86 ± 0,03	7,93 ± 0,01	0,81 ± 0,07	3,56 ± 0,02	3,74 ± 0,03
CO1	83,61 ± 0,14	3,31 ± 0,03	0,61 ± 0,03	3,96 ± 0,02	0,45 ± 0,04	2,95 ± 0,03	5,09 ± 0,16
CO2	83,77 ± 0,20	3,43 ± 0,02	0,57 ± 0,06	4,07 ± 0,03	0,39 ± 0,02	2,91 ± 0,08	4,86 ± 0,03
CO5	84,82 ± 0,04	3,75 ± 0,04	0,55 ± 0,02	3,76 ± 0,04	0,33 ± 0,04	3,04 ± 0,03	3,75 ± 0,00
CF3	57,92 ± 0,94	7,71 ± 0,13	1,12 ± 0,03	7,99 ± 1,35	2,03 ± 0,00	9,83 ± 0,17	13,40 ± 0,15
CF9	57,28 ± 0,03	8,70 ± 0,04	1,29 ± 0,03	9,35 ± 0,03	1,52 ± 0,01	8,15 ± 0,03	13,71 ± 0,10
CF15	55,11 ± 0,06	6,31 ± 0,09	1,80 ± 0,07	10,76 ± 0,06	1,73 ± 0,06	8,97 ± 0,08	15,31 ± 0,02
Moinho de bolas							
MO1	50,35 ± 0,05	16,29 ± 0,09	2,61 ± 0,06	12,52 ± 0,01	1,93 ± 0,04	7,41 ± 0,04	8,88 ± 0,06
MO2	58,36 ± 0,20	13,66 ± 0,10	2,04 ± 0,07	12,02 ± 0,11	1,96 ± 0,08	8,08 ± 0,03	3,87 ± 0,37
MO5	58,33 ± 1,50	14,31 ± 0,45	6,64 ± 0,20	9,91 ± 0,31	2,46 ± 0,12	6,99 ± 2,68	1,36 ± 0,11
MF3	50,04 ± 0,13	17,17 ± 0,03	11,14 ± 0,09	9,68 ± 0,09	4,26 ± 0,06	6,26 ± 0,00	1,44 ± 0,05
MF9	45,47 ± 0,07	15,31 ± 0,02	9,12 ± 0,07	11,77 ± 0,05	7,59 ± 0,06	7,14 ± 0,02	3,59 ± 0,03
MF15	36,26 ± 0,17	19,06 ± 0,03	12,42 ± 0,06	9,97 ± 0,06	7,46 ± 0,09	13,77 ± 0,11	1,06 ± 0,07
CO1	88,03 ± 0,09	4,52 ± 0,06	0,53 ± 0,01	3,06 ± 0,09	0,44 ± 0,04	1,81 ± 0,01	1,61 ± 0,01
CO2	78,93 ± 0,00	7,70 ± 0,02	1,08 ± 0,03	5,68 ± 0,07	0,50 ± 0,03	2,84 ± 0,03	3,27 ± 0,06
CO5	75,34 ± 0,10	6,66 ± 0,04	7,98 ± 0,03	4,49 ± 0,07	0,54 ± 0,01	2,56 ± 0,06	2,43 ± 0,10
CF3	59,70 ± 0,02	12,51 ± 0,02	4,49 ± 0,07	6,41 ± 0,06	2,94 ± 0,03	9,55 ± 0,00	4,39 ± 0,09
CF9	68,05 ± 0,00	9,35 ± 0,00	2,45 ± 0,00	7,56 ± 0,00	1,69 ± 0,00	5,57 ± 0,00	5,34 ± 0,00
CF15	69,12 ± 0,06	8,94 ± 0,08	1,25 ± 0,06	7,60 ± 0,03	0,72 ± 0,03	5,83 ± 0,01	6,54 ± 0,07

MN, bagaço de malte nativo; MT, bagaço de malte tratado; CN, bagaço de mandioca nativo; CT, bagaço de mandioca tratado; MO1, bagaço de malte oxidado 1%; MO2, bagaço de malte oxidado 2%; MO5, bagaço de malte oxidado 5%; MF3, bagaço de malte fosfatado 3%; MF9, bagaço de malte fosfatado 9%; MF15, bagaço de malte fosfatado 15%; CO1, bagaço de mandioca oxidado 1%; CO2, bagaço de mandioca oxidado 2%; CO5, bagaço de mandioca oxidado 5%; CF3, bagaço de mandioca fosfatado 3%; CF9, bagaço de mandioca fosfatado 9%; CF15, bagaço de mandioca fosfatado 15%.

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

Anexo II.2. Poder de inchamento médio obtido nos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
MO1	5,67 ± 0,23 ^{b AB}	5,71 ± 0,01 ^{b B}	5,91 ± 0,07 ^{b A}	6,57 ± 0,01 ^{a A}
MO2	5,90 ± 0,03 ^{c A}	6,16 ± 0,18 ^{bc AB}	6,45 ± 0,06 ^{ab A}	6,82 ± 0,11 ^{a A}
MO5	5,94 ± 0,21 ^{b A}	6,21 ± 0,11 ^{ab AB}	6,47 ± 0,00 ^{ab A}	6,95 ± 0,31 ^{a A}
MF3	5,00 ± 0,07 ^{b C}	5,48 ± 0,19 ^{b B}	5,94 ± 0,37 ^{ab A}	6,51 ± 0,21 ^{a A}
MF9	5,67 ± 0,17 ^{b AB}	5,85 ± 0,35 ^{ab AB}	6,68 ± 0,29 ^{a A}	6,54 ± 0,06 ^{ab A}
MF15	5,29 ± 0,08 ^{b BC}	6,50 ± 0,12 ^{a A}	6,66 ± 0,35 ^{a A}	6,93 ± 0,13 ^{a A}

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

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

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

Anexo II.3. Poder de inchamento médio obtido nos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
CO1	5,66 ± 0,12 ^{b C}	5,96 ± 0,30 ^{ab C}	6,24 ± 0,04 ^{ab B}	6,53 ± 0,17 ^{a B}
CO2	6,43 ± 0,12 ^{b BC}	6,66 ± 0,12 ^{ab BC}	6,98 ± 0,10 ^{ab AB}	7,50 ± 0,36 ^{a AB}
CO5	6,87 ± 0,03 ^{b AB}	7,24 ± 0,10 ^{ab AB}	7,31 ± 0,13 ^{ab AB}	7,91 ± 0,36 ^{a A}
CF3	7,00 ± 0,43 ^{a AB}	7,08 ± 0,36 ^{a B}	7,20 ± 0,10 ^{a AB}	7,39 ± 0,32 ^{a AB}
CF9	7,26 ± 0,04 ^{a AB}	7,49 ± 0,32 ^{a AB}	7,42 ± 0,05 ^{a AB}	8,08 ± 0,34 ^{a A}
CF15	7,72 ± 0,27 ^{a A}	8,14 ± 0,06 ^{a A}	8,10 ± 0,33 ^{a A}	8,33 ± 0,10 ^{a A}

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

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

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

Anexo II.4. Solubilidade média obtida nos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.

Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
MO1	6,28 ± 0,23 ^{c E}	7,03 ± 0,41 ^{bc C}	7,73 ± 0,21 ^{ab E}	8,82 ± 0,40 ^{a D}
MO2	5,90 ± 0,14 ^{c E}	6,46 ± 0,56 ^{bc C}	7,68 ± 0,05 ^{ab E}	8,48 ± 0,17 ^{a D}
MO5	10,86 ± 0,14 ^{a C}	11,71 ± 1,18 ^{a AB}	11,56 ± 0,65 ^{a C}	12,91 ± 0,33 ^{a C}
MF3	8,85 ± 0,25 ^{b D}	8,94 ± 0,04 ^{b BC}	9,67 ± 0,41 ^{b D}	12,49 ± 0,31 ^{a C}
MF9	13,36 ± 0,06 ^{ab B}	12,37 ± 1,59 ^{b A}	13,64 ± 0,39 ^{ab B}	16,20 ± 0,34 ^{a B}
MF15	15,32 ± 0,38 ^{b A}	14,71 ± 0,15 ^{b A}	15,79 ± 0,60 ^{b A}	18,08 ± 0,25 ^{a A}

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

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

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

Anexo II.5. Solubilidade média obtida obtido nos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.

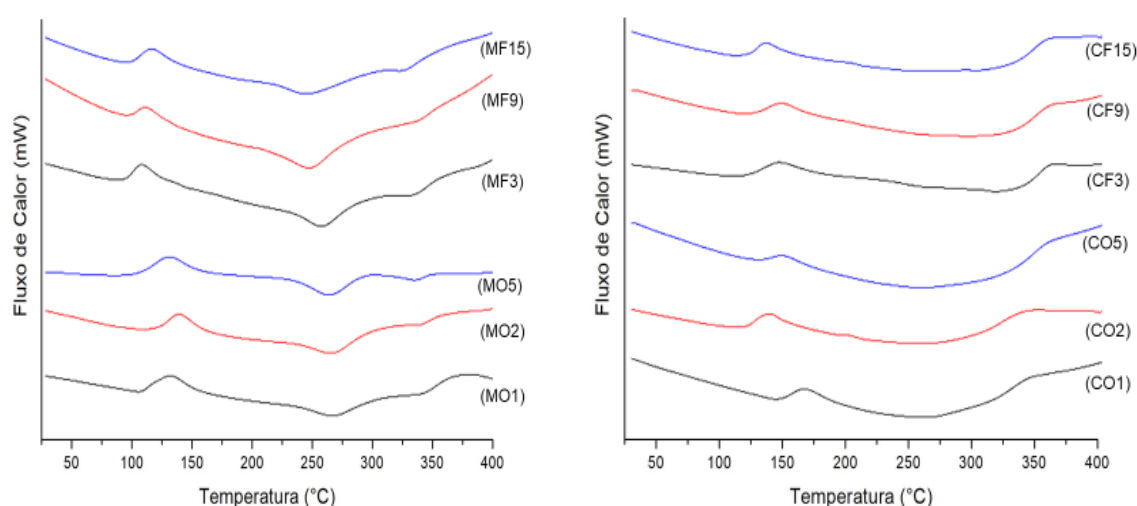
Amostras	Temperaturas (°C)			
	60°	70°	80°	90°
CO1	5,76 ± 0,34 ^{b C}	6,19 ± 0,35 ^{ab BC}	6,52 ± 0,56 ^{ab B}	7,44 ± 0,30 ^{a C}
CO2	8,06 ± 0,31 ^{a B}	8,16 ± 0,99 ^{a AB}	8,13 ± 0,21 ^{a B}	9,28 ± 0,04 ^{a B}
CO5	11,73 ± 0,43 ^{a A}	11,17 ± 1,22 ^{a A}	12,76 ± 0,65 ^{a A}	11,65 ± 0,59 ^{a A}
CF3	3,73 ± 0,20 ^{a DE}	4,17 ± 0,20 ^{a C}	3,26 ± 0,59 ^{a C}	3,74 ± 0,48 ^{a D}
CF9	3,53 ± 0,20 ^{a E}	4,09 ± 0,66 ^{a C}	3,78 ± 0,37 ^{a C}	4,20 ± 0,00 ^{a D}
CF15	4,76 ± 0,06 ^{a CD}	4,28 ± 0,74 ^{a C}	4,12 ± 0,62 ^{a C}	5,08 ± 0,29 ^{a D}

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

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

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

APÊNDICE II.6. Curvas de DSC em amostras de bagaços de malte e de mandioca modificados



Anexo II. 7. Valores de raio-x e índice de cristalinidade obtidos nos bagaços de malte modificados por oxidação e fosfatação.

Amostras	Pico (°)	Ic (%)
MO1	21,55	39,14
MO2	21,65	38,89
MO5	21,65	29,04
MF3	21,65	42,00
MF9	21,75	42,31
MF15	21,45	42,25

MO1, bagaço de malte oxidado 1%; MO2, bagaço de malte oxidado 2%, MO5, bagaço de malte oxidado 5%; MF3, bagaço de malte fosfatado 3%; MF9, bagaço de malte fosfatado 9%; MF15, bagaço de malte fosfatado 15%.

Anexo II. 8. Valores de raio-x e índice de cristalinidade obtidos nos bagaços de mandioca modificados por oxidação e fosfatação.

Amostras	Pico 1 (°)	Pico 2 (°)	Ic (%)
CO1	16,15	22,35	28,64
CO2	16,25	22,25	29,29
CO5	16,25	22,55	31,16
CF3	16,65	22,35	33,04
CF9	16,65	22,15	33,84
CF15	16,85	22,15	33,20

CO1, bagaço de mandioca oxidado 1%; CO2, bagaço de mandioca oxidado 2%, CO5, bagaço de mandioca oxidado 5%; CF3, bagaço de mandioca fosfatado 3%; CF9, bagaço de mandioca fosfatado 9%; CF15, bagaço de mandioca fosfatado 15%.

Capítulo IV

Este capítulo investiga o uso dos bagaços de malte e de mandioca modificados como agentes floculantes adicionados na fabricação de cerveja artesanal durante a fervura. A metodologia seguiu os mesmos parâmetros para os dois tipos de bagaço, e os resultados foram discutidos individualmente.

6 AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE BAGAÇO DE MALTE E BAGAÇO DE MANDIOCA MODIFICADOS (OXIDAÇÃO E FOSFATAÇÃO) NA ATUAÇÃO COMO FLOCULANTE NATURAL PARA A CLARIFICAÇÃO DE CERVEJA ARTESANAL

6.1 Resumo

As características visuais da cerveja estão comumente relacionadas à sua qualidade. A função primária da clarificação é a remoção de partículas que podem conferir turbidez à cerveja, além de aumentar a estabilidade do produto durante o armazenamento. Este estudo foi realizado para investigar se os bagaços de malte e de mandioca modificados por oxidação e fosfatação podem ser utilizados como floculantes no processo de fabricação de cerveja. A eficiência dos bagaços foi comparada a uma cerveja produzida com o clarificante goma carragena, que é tradicionalmente utilizada pela indústria, e uma sem clarificante. Foram realizados experimentos durante as etapas de produção e em quatro tempos de armazenamento acelerado em estufa. Para monitorar o comportamento de floculação, avaliou-se compostos fenólicos, proteínas totais, absorbância, turbidez, sólidos solúveis totais e massa seca do decantado. Foi feita a caracterização físico-química para conferir se a utilização desses materiais causou alterações no perfil do produto final. Tanto o bagaço de malte quanto o bagaço de mandioca demonstraram capacidade de flocular partículas coloidais na cerveja. Entre os bagaços testados, alguns foram mais eficientes que a goma carragena, podendo ser um atrativo para as microcervejarias, pelo fácil acesso e baixo custo, além de ser uma alternativa ambientalmente viável.

Palavras-chaves: modificação química, estabilidade coloidal, “trub”, celulose, vida de prateleira, floculação.

6.2 Abstract

The visual characteristics of beer are commonly related to its quality. The primary function of clarification is the removal of particles that can give beer turbidity, in addition to increasing the stability of the product during storage. This study was carried out to investigate whether malt bagasse and cassava bagasse modified by oxidation and phosphating can be used as flocculants in the brewing process. The efficiency of the bagasse was compared to a beer produced with carrageenan gum, which is traditionally used by the industry, and one without clarifier. Experiments were carried out during the production stages and at four periods of accelerated storage in an oven. To monitor the flocculation behavior, phenolic compounds, total proteins, absorbance, turbidity, total soluble solids and dry mass of the decanted were evaluated. The physical-chemical characterization was carried out to check whether the use of these materials caused changes in the profile of the final product. Both malt bagasse and cassava bagasse demonstrated the ability to flocculate colloidal particles in beer. Some modifications were more efficient than the carrageenan gum, which could be an attractive for microbreweries, due to its easy access and low cost, in addition to being an environmentally viable alternative.

Keywords: Chemical modification, colloidal stability, trub, cellulose, shelf life, flocculation.

6.3 Introdução

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no mundo. Nos últimos anos, houve um crescimento significativo de cervejarias artesanais independentes, mesmo em países sem tradição cervejeira (MAPA, 2021; VILLACRECES; BLANCO; CABALLERO, 2022). Os consumidores tem procurado produtos genuínos, singulares e diferentes (NIU et al., 2018; PARKER, 2011), onde o equilíbrio sensorial e a aparência definem a aceitação e qualidade da bebida (OLIVEIRA, 2015).

A produção de cerveja é relativamente simples, e amplamente estudada, sendo que a obtenção de um produto de qualidade depende de muitos fatores que requerem cuidados, tecnologia e conhecimento (GASSARA et al., 2015; ZUPPARDO, 2010). O processo compreende várias etapas, que envolvem a

mosturação, fervura, resfriamento, fermentação, maturação e separações do líquido e sólidos (separação do mosto, clarificação do mosto e clarificação da cerveja bruta) (BOGDAN; KORDIALIK-BOGACKA, 2017; BRIGGS et al., 2004). Após a produção, a cerveja costuma ser armazenada à temperatura ambiente e, em alguns estilos, pode acarretar um problema frequente de formação de turbidez, devido à combinação de polifenóis (tanino) e proteínas. Alguns tipos de cerveja que não contêm turbidez no momento da embalagem podem desenvolver esse tipo de complexo durante o armazenamento a longo prazo. Este é um desafio persistente na indústria cervejeira que influencia a percepção do consumidor sobre a qualidade do produto (HRABIA et al., 2022; GASSARA et al., 2015). Por isso, é importante minimizar as concentrações de proteínas e/ou polifenóis.

Dentre as alternativas mais utilizadas para reduzir a turbidez da cerveja, está a adição de agentes clarificantes, que atuam por diversos mecanismos, dependendo do tipo e origem. Além dos processos que utilizam filtração com terra diatomácea (BERNARDI et al., 2019), a gelatina é comumente usada por cervejeiros artesanais durante a maturação, e esse composto forma uma rede que se liga às cargas positivas das proteínas (ROSA; AFONSO, 2015)(VENTURINI FILHO, 2010).

Outros tipos de flocculantes, como carragena (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019) e bentonita (GASSARA et al., 2015), são adicionados ao mosto durante a fervura para acelerar a agregação e sedimentação dos complexos proteína-proteína e proteína-polifenol durante o resfriamento. A reação exata não é clara, mas acredita-se que o flocculante carregado negativamente interage com proteínas carregadas positivamente, formando um complexo insolúvel que precipita no fundo do tanque (SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019), contribuindo para as etapas posteriores, como resfriamento, sedimentação mais compacta (o que leva a perdas reduzidas de mosto), menor tempo de ebulição, maior limpidez, com maior estabilidade coloidal e, conseqüentemente, com uma vida útil mais longa (DALE; MORRIS; LYDDIATT, 1995; POREDA et al., 2015; SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019). Apesar disso, a origem desses compostos não é sustentável e ecologicamente viável, pois são extraídos de algas e material vulcânico, o que instiga a busca por novas opções que atendam a essas demandas.

Em contrapartida, os resíduos ricos em celulose encontram-se em abundância na natureza. Cervejarias e feculárias são exemplos de indústrias responsáveis por gerar elevada quantidade desses materiais, como bagaço de malte e de mandioca, que têm características interessantes, devido à sua biodegradabilidade e não toxicidade, além da disponibilidade e facilidade de sofrer modificações químicas que adaptem às aplicações desejadas.

Apesar de existirem diversas pesquisas utilizando esses compostos lignocelulósicos, conforme a literatura publicada até o momento, não foi encontrado nenhum estudo sobre a aplicação destes em clarificação de cerveja. Embora a produção de cerveja, e principalmente cerveja artesanal, esteja em foco nos últimos anos, estudos voltados para a etapa de clarificação ainda são limitados. Além disso, é difícil comparar dados de literatura, devido a falta de concordância sobre o método adequado para as análises e a divergência entre os resultados encontrados (OLIVEIRA, 2015). Alguns pesquisadores como Saluri, Robal e Tuvikene (2019) e Gassara et al. (2015) compartilham dessa opinião, destacando que suas pesquisas são inovadoras, justamente pela dificuldade de comparar seus resultados com outras fontes bibliográficas.

Por isso, baseado na reação eletrostática que ocorre com a carragena, esta pesquisa investigou a hipótese de flocular proteínas do mosto ao modificar quimicamente esses resíduos e incluir cargas negativas em sua estrutura por oxidação e fosfatação em diferentes concentrações. A eficiência desses bagaços foi comparada a carragena e a não adição de clarificante. Como os estudos e mecanismos de clarificação de mosto e de cerveja são escassos, este trabalho avaliou os parâmetros de compostos fenólicos, proteínas, absorbância, turbidez, sólidos solúveis totais e massa seca do decantado em todas as etapas de produção de uma cerveja artesanal, assim como durante o armazenamento.

6.4 Material e métodos

6.4.1 Material

Os mostos e as cervejas foram produzidos com água potável obtida no Laboratório de Bioprocessos da Universidade Estadual Paulista – UNESP, São José do Rio Preto-SP, Brasil. O extrato de malte, lúpulo (Citra), levedura

(*Saccharomyce cerevisiae*, Saflager™ W-34/70) e carragena em flocos foram obtidos de um distribuidor de insumos para microcervejeiros, localizado na cidade de São José do Rio Preto-SP, Brasil.

Para avaliar o potencial de clarificação das cervejas foram utilizados bagaço de malte tratado por reação alcalina (MT), de acordo com a metodologia proposta por Silva (2007) e bagaço de mandioca tratado por hidrólise ácida (CT), segundo Zenatti et al. (2015). A partir dos tratamentos, os resíduos fibrosos foram posteriormente modificados por tratamento oxidativo com hipoclorito de sódio (NaClO) (SANGSEETHONG; LERTPHANICH; SRIROTH, 2009) e fosfatados com tripolifosfato de sódio (Na₅P₃O₁₀) (KERR; CLEVELANAND, 1964), em três concentrações para cada fonte botânica, resultando em 12 tratamentos. O código, a fonte botânica, o tipo de modificação e as concentrações de reagentes estão apresentados na Tabela 20.

Os reagentes utilizados para os tratamentos e modificações foram de pureza analítica.

Tabela 20. Apresentação das amostras, codificações e modificações realizadas.

Código	Fonte Botânica	Modificação	Concentração (%)	Reagente
MO1	Malte	Oxidação	1	Hipoclorito de sódio (NaClO)
MO2	Malte	Oxidação	2	Hipoclorito de sódio (NaClO)
MO5	Malte	Oxidação	5	Hipoclorito de sódio (NaClO)
MF3	Malte	Fosfatação	3	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
MF9	Malte	Fosfatação	9	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
MF15	Malte	Fosfatação	15	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
CO1	Mandioca	Oxidação	1	Hipoclorito de sódio (NaClO)
CO2	Mandioca	Oxidação	2	Hipoclorito de sódio (NaClO)
CO5	Mandioca	Oxidação	5	Hipoclorito de sódio (NaClO)
CF3	Mandioca	Fosfatação	3	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
CF9	Mandioca	Fosfatação	9	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
CF15	Mandioca	Fosfatação	15	Tripolifosfato de sódio (Na ₅ P ₃ O ₁₀)
CG	Goma Carragena	-	-	-
C	Controle	-	-	-

6.4.2 Fabricação das cervejas - Padronização da metodologia

Foram realizados testes, onde verificou-se que a metodologia tradicional de fabricação de cervejas, partindo da moagem do malte, mosturação e filtração, apresenta alta variação dos resultados, dificultando a comparação entre as amostras. Por isso, para este estudo, foi realizada uma adaptação do método de

fabricação de cervejas, utilizando-se extrato de malte como base para o mosto.

6.4.2.1 *Produção das cervejas*

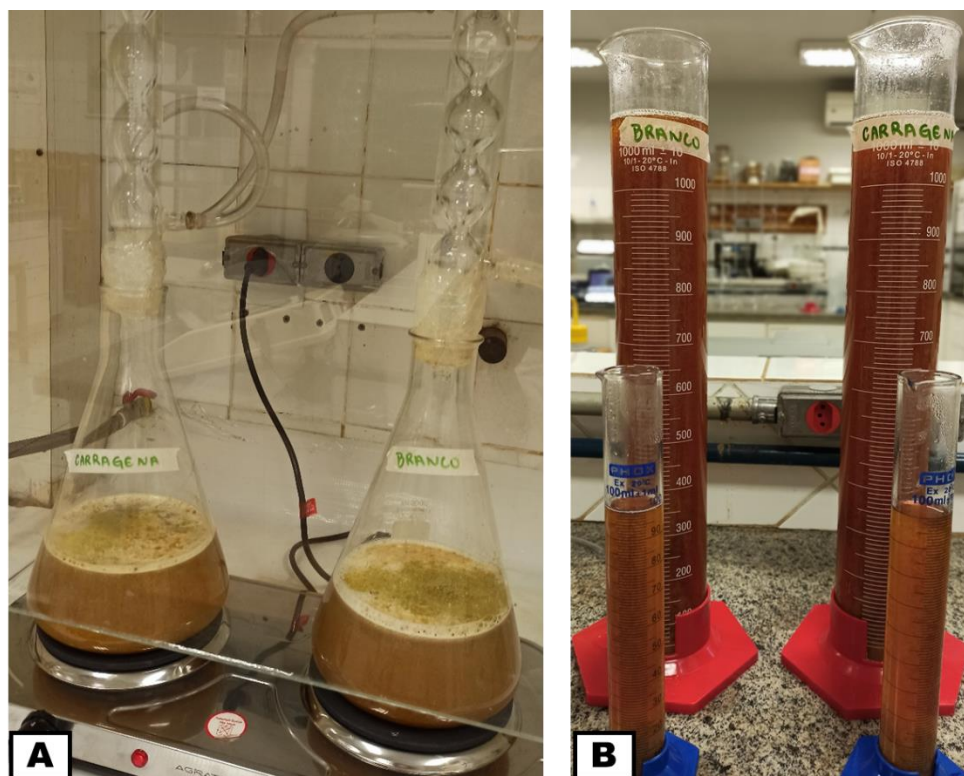
Para conseguir realizar a avaliação do potencial clarificante dos bagaços de malte e de mandioca modificados por oxidação e fosfatação em diferentes concentrações, utilizou-se frascos de erlenmeyer de dois litros, com sistema de recirculação de água (condensadores) acoplado nos mesmos, para evitar a evaporação da água. Para o aquecimento e ebulição do mosto, utilizou-se uma chapa elétrica (Figura 31 - A).

O experimento foi padronizado para fabricação de uma cerveja estilo American Lager, onde os insumos foram calculados para obter um produto com 12 °Brix (OG: 1,048) e 12 IBU. A partir disso, com o objetivo de avaliar a precipitação de proteínas e a eficiência da clarificação, testou-se os bagaços modificados na concentração de 0,1 g/L. Os bagaços de malte e de mandioca modificados foram adicionados ao mosto no início da fervura, que ocorreu por 60 minutos.

Foram produzidas duas formulações controle para comparação, onde na primeira foi adicionada goma carragena em flocos (CG), na proporção recomendada pelo fabricante (0,1 g/L), e na segunda amostra nada foi adicionado (C). Foram produzidos 1200 mL de mosto. O lúpulo foi adicionado no início da fervura.

Após, parte do mosto foi transferido para uma proveta de 1000 mL e outra parte adicionada a uma proveta de 100 mL (Figura 31 – B). Foi realizado “whirlpool” e as amostras permaneceram em descanso para a decantação das proteínas, o qual foi observado no tempo 40 minutos (“hot break”). Decorrido esse período, da proveta de 100 mL foi retirada uma alíquota para análises e 25 mL do sobrenadante foi adicionado em uma proveta (25 mL), que foi imediatamente resfriada a 4 °C por 12 horas (“cold break”). O sobrenadante do mosto frio também analisado.

Figura 31. (A) Processo de fervura do mosto, (B) Processo de decantação do “trub” em proveta de 1000 mL e 100 mL (“Hot Break”).



Fonte: elaborada pela autora.

O mosto da proveta de 1000 mL foi separado do decantado e resfriado (banho de gelo) diretamente para o recipiente fermentador. Em todos os tratamentos, foi adicionada a levedura na forma de “inóculo pré-ativado”. Os fermentadores foram tampados com batoques hidráulicos e deixados em repouso a 12 °C durante sete dias. A maturação foi realizada por 14 dias a 0 °C.

O engarrafamento da cerveja maturada foi dividido em garrafas âmbar de 300 mL e recipientes de 30 mL, previamente lavados e sanitizados com álcool 70 °GL. A carbonatação foi forçada, utilizando injeção de CO₂. Todos os recipientes foram armazenados verticalmente em local com pouca luminosidade e temperatura de 5 °C, durante 20 dias. Após este prazo, a cerveja da garrafa de 300 mL foi avaliada e os recipientes menores (30 mL) foram colocados em estufa a 60 °C por 24, 48, 72 e 96 horas para avaliação do “shelf life” acelerado.

6.4.3 Estratégia

Para avaliar a suposta precipitação de proteínas e clarificação do mosto,

foram coletadas alíquotas de cada ensaio em pontos específicos do processo e as mesmas foram submetidas às análises. Os pontos selecionados para avaliação encontram-se na Tabela 21.

Tabela 21. Pontos de amostragem avaliados na clarificação da cerveja.

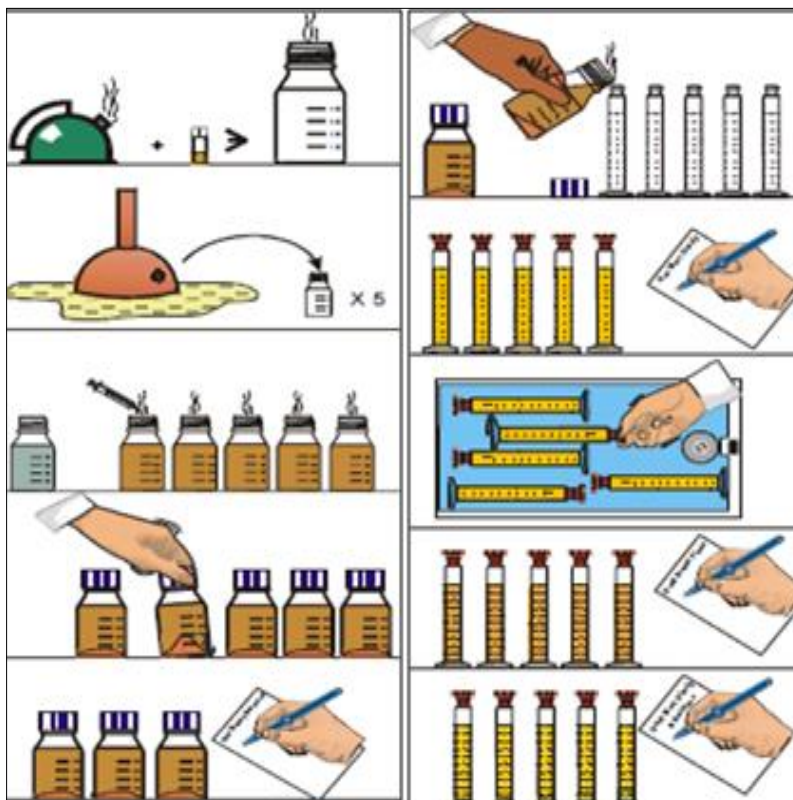
Etapas do processo	Especificação da coleta
Mosto Quente	Final da fervura
Mosto Frio	4 °C por 12 horas
Final da Fermentação	7 dias de fermentação (12 °C)
Final da Maturação	14 dias em temperatura de 0 °C
Produto acabado (envase)	20 dias após o engarrafamento (5 °C)
Shelf Life	24 horas a 60 °C
Shelf Life	48 horas a 60 °C
Shelf Life	72 horas a 60 °C
Shelf Life	96 horas a 60 °C

6.4.4 Avaliação do potencial clarificante de cerveja

6.4.4.1 Teste Rápido

Este teste foi realizado a partir do método rápido proposto por Ward e Leather (1995) (Figura 32), com modificações. Neste método, ao término da fervura, uma alíquota de mosto quente foi colocada em provetas de 1000 mL e 100 mL. O líquido foi deixado em repouso para permitir a sedimentação a quente. Os efeitos foram observados e registrados em 40 minutos de sedimentação (“hot break”). Após, o sobrenadante deste mosto foi coletado e colocado em proveta de 25 mL. A amostra foi resfriada, seguido de descanso por 12 horas a 4 °C para observar a clarificação a frio (“cold break”). Este procedimento foi realizado igualmente para todos os tratamentos.

Figura 32. Teste rápido para verificar o comportamento de decantação.



Fonte: (Ward (2019a)).

6.4.4.2 Determinação de compostos fenólicos totais

O índice de polifenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico desenvolvido por Folin-Ciocalteu segundo metodologia de Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. As análises foram realizadas em triplicata. Foram pipetados 30 μL da amostra, 2370 μL de água destilada, e 150 μL de Folin-Ciocalteu. Após 2 minutos de repouso, adicionou-se 450 μL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 15%. As soluções foram incubadas na ausência de luz a 40 °C por 20 minutos para completa reação. A absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22), previamente calibrado contra o branco. Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico ($y=0,001x + 0,0286$; $R^2=0,9960$) e expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por litro (mg EAG.L^{-1}).

6.4.4.3 Doseamento de proteínas pelo método de Bradford

A quantificação de proteínas foi desenvolvida a partir do método proposto por Bradford (1976), com adaptações. As análises foram realizadas em triplicata. Foram pipetados 50 µL da amostra e 2500 µL de reagente Comassie Brilhante Blue. As soluções foram armazenadas ao abrigo da luz por 10 minutos para completa reação. A absorbância foi lida a 595 nm em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22), previamente calibrado contra o branco. Os valores de proteína foram interpolados através da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de extrato protéico BSA ($y = 0,0113x + 0,0078$; $R^2=0,9966$) e expressos em miligramas de equivalente de BSA por litro (mg BSA.L⁻¹).

6.4.4.4 Turbidez

A turbidez é o parâmetro mais importante relacionado à eficiência de floculação na cerveja. As medições de turbidez indicam a quantidade de partículas coloidais e suspensas no produto. Esta medida utilizou um turbidímetro (Quimis, modelo Q279P, Diadema, SP, BR), previamente calibrado. A medição do aparelho utiliza a unidade de turvação em NTU (Nephelometric Turbidity Unit). As amostras foram avaliadas a 20 °C.

6.4.4.5 Absorbância a 600 nm

Para realização de espectrofotometria seguiu-se o método descrito por Dale, Morris e Lyddiatt (1995). Foi coletada uma alíquota da superfície e a turbidez foi avaliada através da medição da absorbância a um comprimento de onda de 600 nm utilizando um espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22) em relação a um branco de água destilada.

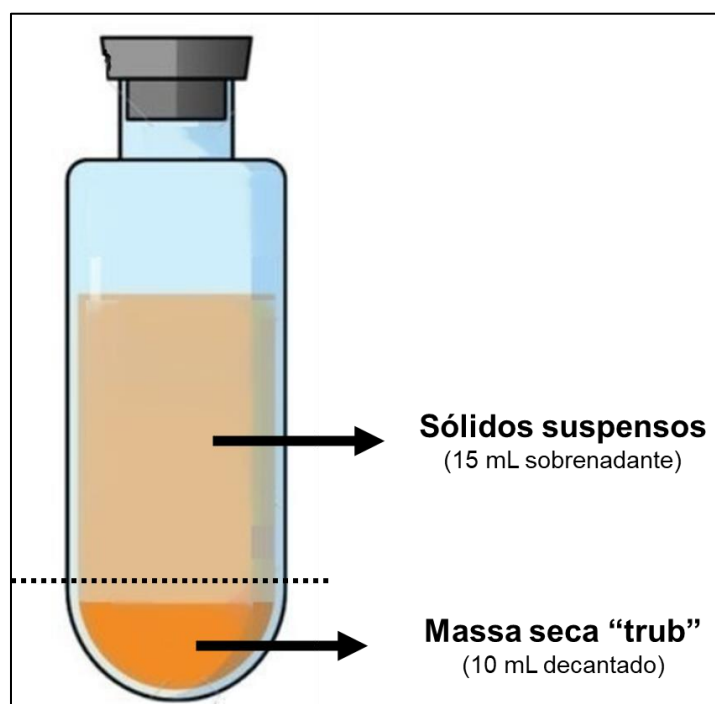
6.4.4.6 Sólidos suspensos totais e massa seca do “*trub*” decantado

Uma amostra de 25 mL foi colocada em um tubo de vidro, onde permaneceu em repouso por 24 horas (Figura 33). Após, para análise de sólidos suspensos, 15

mL da amostra sobrenadante foi filtrada usando um papel de filtro pré-pesado. O papel foi subsequentemente seco a 105 °C até peso constante e o valor foi calculado a partir da diferença.

O decantado restante (10 mL) foi utilizado para a análise de massa seca. Uma quantidade conhecida de amostra foi completamente seca a 105 °C e posteriormente pesada para calcular o valor a partir da diferença.

Figura 33. Demonstração das frações avaliadas por sólidos suspensos e massa seca.



Fonte: elaborada pela autora.

6.4.5 Caracterização físico-química da cerveja

As amostras das cervejas artesanais foram avaliadas físico-quimicamente em relação a pH, teor alcoólico, acidez, amargor, cor, brix final, extrato original ou primitivo, extrato real e grau de fermentação. Todas as amostras foram previamente descarbonatadas em banho-maria com ultrassom, e posteriormente analisadas em triplicata de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) e a Convenção Européia de Cerveja (EBC, 2010).

A avaliação foi realizada no produto acabado (20 dias após o engarrafamento a 5 °C), com o objetivo de verificar se a adição dos bagaços influenciaram esses parâmetros durante o armazenamento.

6.4.5.1 *Análise de pH*

Os valores de pH (IAL, 201.9) das formulações foram determinados utilizando-se um pH-metro (Marconi, modelo PA-200), previamente calibrado com as soluções tampões pH 4 e pH 7. As amostras foram analisadas à temperatura de 20 °C.

6.4.5.2 *Teor alcoólico*

O teor alcoólico foi determinado em densímetro digital após a cerveja ser submetida ao processo de destilação (EBC 9.2.1). O valor obtido foi expresso em % (m/m).

6.4.5.3 *Acidez total*

A análise de acidez total foi realizada por meio da técnica de titulação com solução de NaOH 0,1N utilizando fenolftaleína como indicador (IAL, 221.9). A acidez total, expressa em gramas de ácido láctico em 100 mL, foi obtida utilizando a Equação 9, onde n corresponde ao volume gasto na titulação da solução de NaOH, em mL, M a molaridade da solução de NaOH, f ao fator de correção da solução de NaOH, MM a massa molar do ác. láctico (60g) e V ao volume tomado da amostra em mL.

$$\text{Acidez total em g de ác. láctico em 100mL} = \left(\frac{n \times M \times f \times MM}{10 \times V} \right) \quad (9)$$

6.4.5.4 *Amargor*

A avaliação do amargor (EBC, 9.8) foi efetuada por leitura espectrofotométrica de absorbância a 275 nm. Foram adicionados em tubo Falcon 10 mL de amostra, 0,5 mL de ácido clorídrico 6 mol/L e 20 mL de isoctano. Em seguida, foi feita a agitação constante por 20 minutos e a centrifugação a 10.000 G

por 20 minutos a 20 °C. O cálculo foi obtido a partir dos valores das leituras (Equação 10). O amargor foi expresso utilizando a escala IBU (International Bitterness Unit).

$$\text{Amargor (IBU)} = 50 \times Abs_{275} \quad (10)$$

6.4.5.5 Cor

A cor da cerveja (EBC, 9.6) foi determinada por leitura em espectrofotômetro com absorvância a 430 nm. Os resultados das leituras foram calculados (Equação 11) e expressos na escala EBC. A codificação A corresponde a leitura de absorvância e o f ao fator de diluição.

$$\text{Cor (EBC)} = A \times f \times 50 \quad (11)$$

6.4.5.6 Extrato original ou primitivo

Para a obtenção desse resultado (EBC, 1.4.1), foi realizado um cálculo (Equação 12), onde A corresponde ao álcool em % (m/m), e E_R a % de extrato real.

$$\text{Extrato Original, em \%} \frac{m}{m} = \left(\frac{[(2,0665) \times A] + E_R}{[100 + (1,0665 \times A)]} \right) \times 100 \quad (12)$$

6.4.5.7 Extrato real

O extrato real (IAL, 248.9) foi resultado da pesagem do resíduo seco de um volume de 10 mL de cerveja submetido à evaporação. Os resultados foram obtidos a partir da Equação 13, onde P corresponde a massa do resíduo, em gramas e V ao volume da amostra, em mL.

$$\text{Extrato real \%} \frac{m}{V} = \left(\frac{100 \times P}{V} \right) \quad (13)$$

6.4.5.8 Grau real de fermentação

O grau real de fermentação (EBC, 9.5) foi calculado com base no percentual de álcool e extrato primitivo conforme a Equação 14, onde A corresponde ao álcool (m/m) e E_R a % de extrato real.

$$\text{Grau Real de Fermentação} = \left(\frac{2,0665 \times A}{2,0665 \times A + E_R} \right) \times 100 \quad (14)$$

6.4.6 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Minitab 17. Os dados experimentais foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

6.5 Resultados e discussões

6.5.1 Teste Rápido

A etapa de fervura visa além da esterilização do mosto, a coagulação e eliminação do excesso de proteínas. Os resultados de sedimentação encontram-se na Tabela 22.

Tabela 22. Avaliação da sedimentação pelo teste rápido no mosto quente e mosto frio.

Teste rápido (40 minutos de descanso)					
Tratamentos	[] (g/L)	Hot break		Cold break	Característica
		100 mL	1000 mL	25 mL	
MO1	0,1	15	175	2	Compacto
MO2	0,1	15	190	2	Compacto
MO5	0,1	15	180	2,2	Compacto
MF3	0,1	16	180	2,1	Compacto
MF9	0,1	16	200	2	Compacto
MF15	0,1	16	180	2	Compacto
CG	0,1	23	250	5	Não compacto / esponjoso
C	-	12	160	0,5	Não compacto / esponjoso
CO1	0,1	16	170	2	Compacto
CO2	0,1	15	180	2	Compacto
CO5	0,1	21	240	2,1	Compacto
CF3	0,1	14,5	170	2,1	Compacto
CF9	0,1	15	170	2	Compacto
CF15	0,1	14,4	170	1,9	Compacto
CG	0,1	23	250	5	Não compacto / esponjoso
C	-	12	160	0,5	Não compacto / esponjoso

A formação, a forma e o tamanho das partículas do “trub” são predominantemente dependentes da maneira como o processo é realizado, bem como do extrato e composição do mosto. Em relação às suas propriedades físicas, o “trub” quente consiste em partículas que formam aglomerados menores ou maiores, e tendem a sedimentar espontaneamente sob força gravitacional. Esta dispersão pode ser acelerada e separada usando a técnica chamada “whirlpool”. As partículas menores não são removidas com eficácia usando essa técnica devido ao seu tempo de sedimentação excepcionalmente longo (JAKUBOWSKI et al., 2016).

Em relação às suas propriedades químicas, o “trub” quente consiste principalmente de proteínas e taninos (BRIGGS et al., 2004), assim como outros compostos oriundos do cereal utilizado na produção de cerveja. Supõe-se que a sua composição a quente seja de 40 a 70% de material proteico, 10 a 20% de ácido amargo, 7 a 8% de polifenóis, 7 a 10% de carboidratos e 1 a 2% de ácidos graxos e outros compostos químicos (JAKUBOWSKI et al., 2016).

Os resultados não podem ser comparados estatisticamente porque as amostras não foram avaliadas com repetições e a velocidade de sedimentação foi um teste qualitativo e visual avaliado em 40 minutos no mosto quente e após 12 horas de resfriamento. Essa é uma avaliação preliminar para acompanhar o comportamento de sedimentação. No entanto, a partir dos valores obtidos, nota-se

que a amostra com menor sedimentação foi a sem clarificante (C). Também foi possível observar que, apesar de CG apresentar mais sedimento, a característica desse precipitado não foi compacta, o que pode ser um prejuízo para o rendimento do processo, pois o objetivo de utilizar um clarificante é eliminar proteínas e obter um “trub” denso, que seja mais fácil de separar do líquido. A Figura 34 demonstra o aspecto da goma carragena no mosto, comparado a uma amostra contendo bagaço modificado.

Figura 34. Comparação do “trub” obtido de uma amostra contendo bagaço modificado (1) e goma carragena (2).



Para os mostos contendo bagaço de malte modificado, as amostras fosfatadas apresentaram uma compactação levemente maior que as amostras oxidadas, nas provetas de 100 mL, e as amostras MO2 e MF9 tiveram maior sedimentação na proveta de 1000 mL, mas os resultados foram inferiores aos da CG. O que pode ter ocorrido é que as proteínas ainda estavam reagindo com os “compostos clarificantes” e formando compostos precipitados maiores para posteriormente decantar, onde visualmente a formação de sedimento era mais alta, mas ainda havia muito líquido presente e o sedimento (“trub”) apresentava-se “esponjoso”. Pode ser que a reação ocorreu de forma mais lenta, sendo necessário

acompanhar todo o processo de obtenção de cerveja para verificar a eficiência do clarificante. Oliveira (2015) verificou que durante o teste rápido a goma carragena foi mais eficiente, mas nas etapas subsequentes algumas amostras de amido modificado apresentaram maior clarificação.

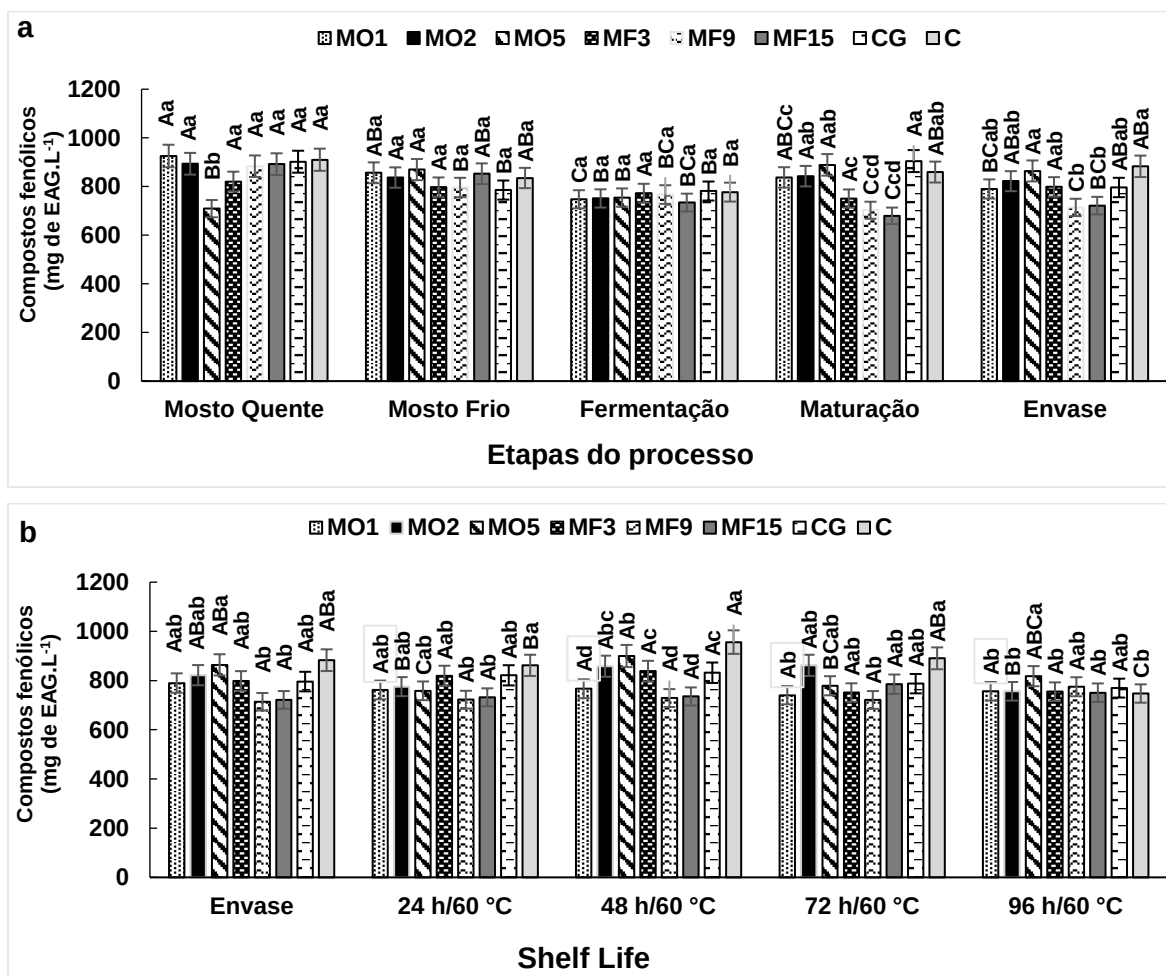
Para as amostras testadas com bagaço de mandioca modificados, seguido da amostra CG, CO5 teve maior valor de sedimentação entre todos os mostos contendo bagaço. Jakubowski e colaboradores (2016) avaliaram a distribuição de tamanho das partículas do “trub” usando o método de imagem “Shadow Sizing” e determinaram que as amostras de cerveja industrial continham partículas na faixa de tamanho entre 24 a 700 μm , no caso de mosto com baixa concentração de extrato, e até 500 μm no caso de mosto com alto teor de extrato. Além disso, determinou-se que o mosto com malte e o mosto com cevada não maltada continham quantidades diferentes de “trub” quente, cujas partículas eram de tamanhos diferentes.

6.5.2 Determinação de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos representam um grupo de substâncias químicas contendo pelo menos uma unidade de fenol, que pode ser dividida em compostos monofenólicos, polifenóis não flavonóides, flavonóides e taninos condensados. Os componentes fenólicos da cerveja são originários do malte e do lúpulo. Embora o lúpulo seja normalmente adicionado em menor quantidade (100 vezes menos) que o malte, o lúpulo contribui com cerca de 30% do total de polifenóis da cerveja e é a fonte excepcional de catequinas e proantocianidinas. É importante ressaltar que nem todos os polifenóis da cerveja estão envolvidos na instabilidade física e participam da formação de turbidez, e os flavonóides oxidados podem ter uma forte influência nesse aspecto (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018) .

Os comportamentos dos bagaços modificados e da goma carragena quanto a remoção parcial de compostos fenólicos em diferentes etapas do processo de obtenção de cerveja e na avaliação do “shelf life” estão na Figura 35 e 36.

Figura 35. Avaliação da redução de compostos fenólicos utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como flocculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).



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

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

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

Ao observar o gráfico a, pode-se perceber uma tendência parecida entre as amostras, mas com proporções diferentes ($p < 0,05$). Entre o mosto quente até a fermentação, os compostos fenólicos tendem a diminuir. Isso ocorre porque o mosto quente contém elevada quantidade de proteína que forma coágulos que precipitam, gerando o “trub”. No entanto, os polifenóis tendem a se ligar nessas proteínas, principalmente em temperaturas mais baixas, formando parte do sedimento (ZHAO; SUN-WATERHOUSE, 2018). Com a presença de agente clarificante, essa reação pode ser mais eficiente.

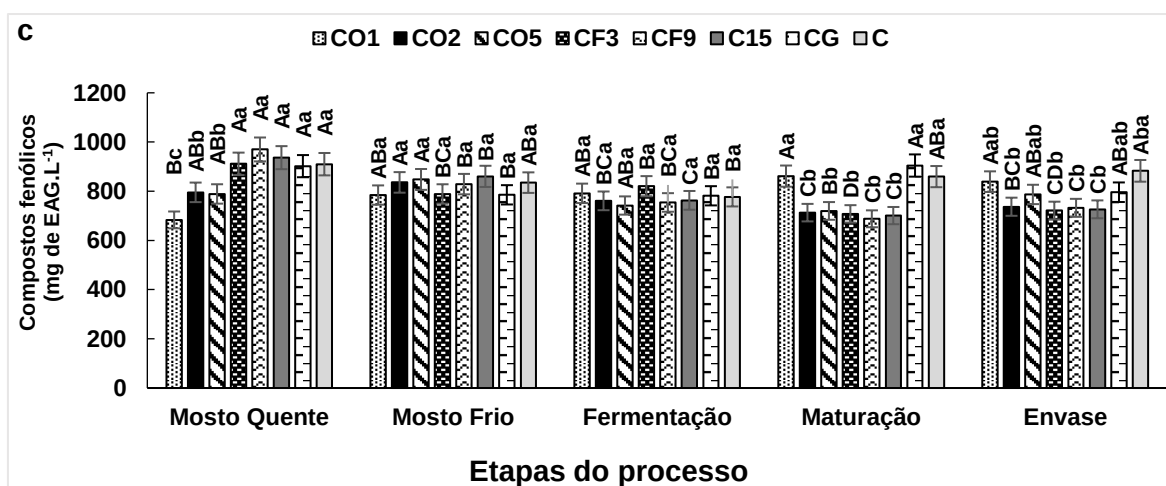
A partir do final da maturação, as amostras MF3, MF9 e MF15 apresentaram redução de polifenóis de 12,7, 18,3 e 20,9%, respectivamente, comparadas com a amostra sem clarificante (C). Além disso, observou-se que após o envase essas

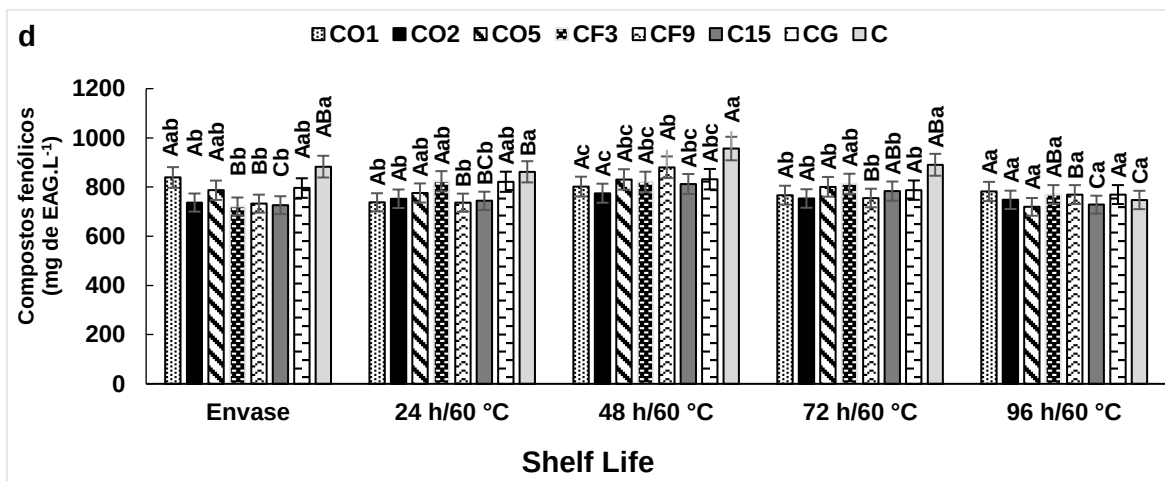
amostras mantiveram-se estáveis. Já as amostras com adição de bagaços oxidados, assim como a CG, apresentaram resultados semelhante ao controle (C).

Durante o período de “shelf life” (gráfico b), observou-se que as amostras MO1, MF3, MF9 e MF15 demonstraram estabilidade no teor de polifenóis desde o envase até as 96 horas de teste ($p \geq 0,05$). Esses componentes são responsáveis pela formação de turbidez durante o armazenamento da cerveja devido à interação com a proteína (GASSARA et al., 2015). Por isso, os resultados obtidos sugerem que esses bagaços podem atuar como floculantes naturais para a clarificação da cerveja e manutenção da estabilidade durante o armazenamento.

A avaliação da atuação dos bagaços de mandioca modificados na redução de compostos fenólicos está na Figura 36. Na literatura, a comparação em relação a valores é difícil, pois há grande variedade de lúpulos utilizados na fabricação de cerveja, e estes contêm diferentes proporções de α -ácidos, resultando em valores diversos de compostos fenólicos totais. Entretanto, alguns autores detectaram um comportamento parecido com o obtido nesse estudo, onde, com o decorrer do processo, o teor de compostos fenólicos foi diminuindo (GASSARA et al., 2015; OLIVEIRA, 2015; SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019).

Figura 36. Avaliação da redução de compostos fenólicos utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).





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

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

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

Ao observar o desempenho dos bagaços modificados durante as etapas do processo, notou-se que, no mosto quente, os bagaços oxidados reduziram significativamente o teor de polifenóis, em comparação às amostras fosfatadas e aos controles (CG e C), em que CO1 diminuiu 24,9%, em relação a amostra sem clarificante. No entanto, nas etapas subsequentes, esse comportamento não se manteve, pois, durante a maturação e envase, esta amostra apresentou valores semelhantes a C e CG. Para os bagaços CO2, CO5, CF3, CF9 e CF15 houve um decréscimo no conteúdo de compostos fenólicos nessas etapas, sugerindo que o efeito da diminuição da temperatura, juntamente com a ação flocculante dessas amostras, estimulou a sedimentação de polifenóis suspensos.

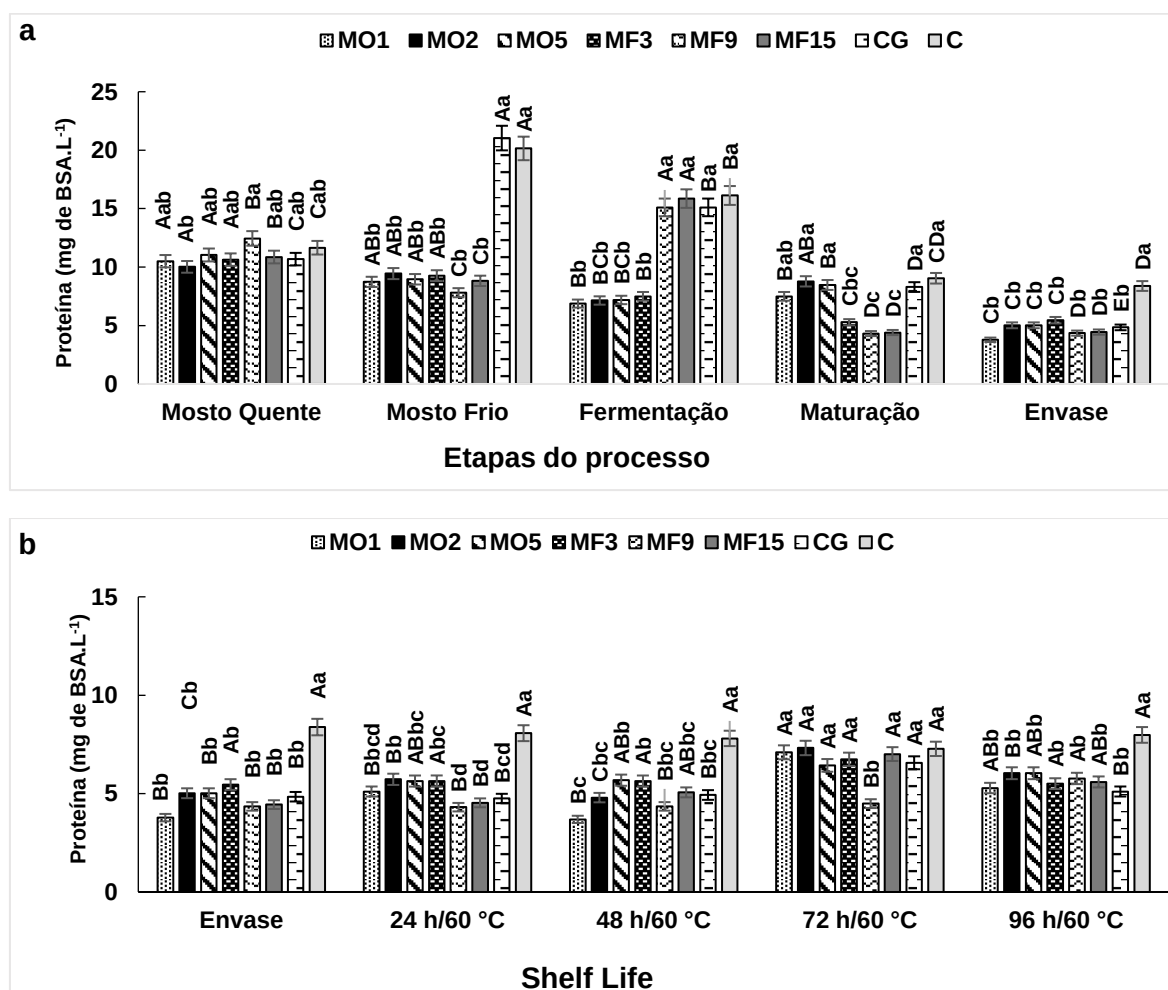
Durante a estimativa de vida de prateleira, os resultados apontaram que a fosfatação, assim como CG e C apresentam variação estatística durante as etapas. Já para as amostras contendo bagaços oxidados, notou-se que os valores foram iguais ($p > 0,05$), sugerindo uma maior estabilidade coloidal do produto até as 96 horas testadas, que equivalem a um ano de validade. Também foi possível verificar que, até 48 horas de estudo de “shelf life” a 60 °C, todos os bagaços e a CG apresentaram valores inferiores ao controle.

6.5.3 Teor de proteínas totais

A proteína da cerveja é originária da cevada maltada, contém cerca de 10 a 12% de proteína, e muitas dessas são removidas durante o processo de ebulição,

deixando a cerveja em média com 0,2–0,6 g/100 mL de material derivado de proteína, principalmente na forma de peptídeos e polipeptídeos. Os valores exatos dependem da preparação e do tipo de cerveja (ANDERSON et al., 2019). No entanto, esses compostos afetam grande parte do processo de fabricação e a qualidade (CIMINI; MORESI, 2018). Na Figura 37 estão expostos os resultados da avaliação do teor de proteínas totais para os experimentos realizados com bagaço de malte modificado por oxidação e fosfatação.

Figura 37. Avaliação da redução de proteínas utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como flocculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).



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

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

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

O excesso de proteínas na cerveja aumenta o risco de turvação do produto final. Durante o processo, percebeu-se que houve variação na proporção de proteínas totais. Ao observar os valores obtidos no mosto quente, é identificada que

a redução desse composto foi mais eficiente na amostra MO2 ($p < 0,05$). Em relação ao mosto frio, as amostras C e CG apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$), demonstrando que possivelmente os fenólicos que estavam ligados às proteínas de menor peso molecular tenham se separado, aumentando a turbidez a frio (“chill haze”). Todos os bagaços modificados diminuíram o teor proteico ($p > 0,05$), sendo eficientes na redução proteica nessa etapa.

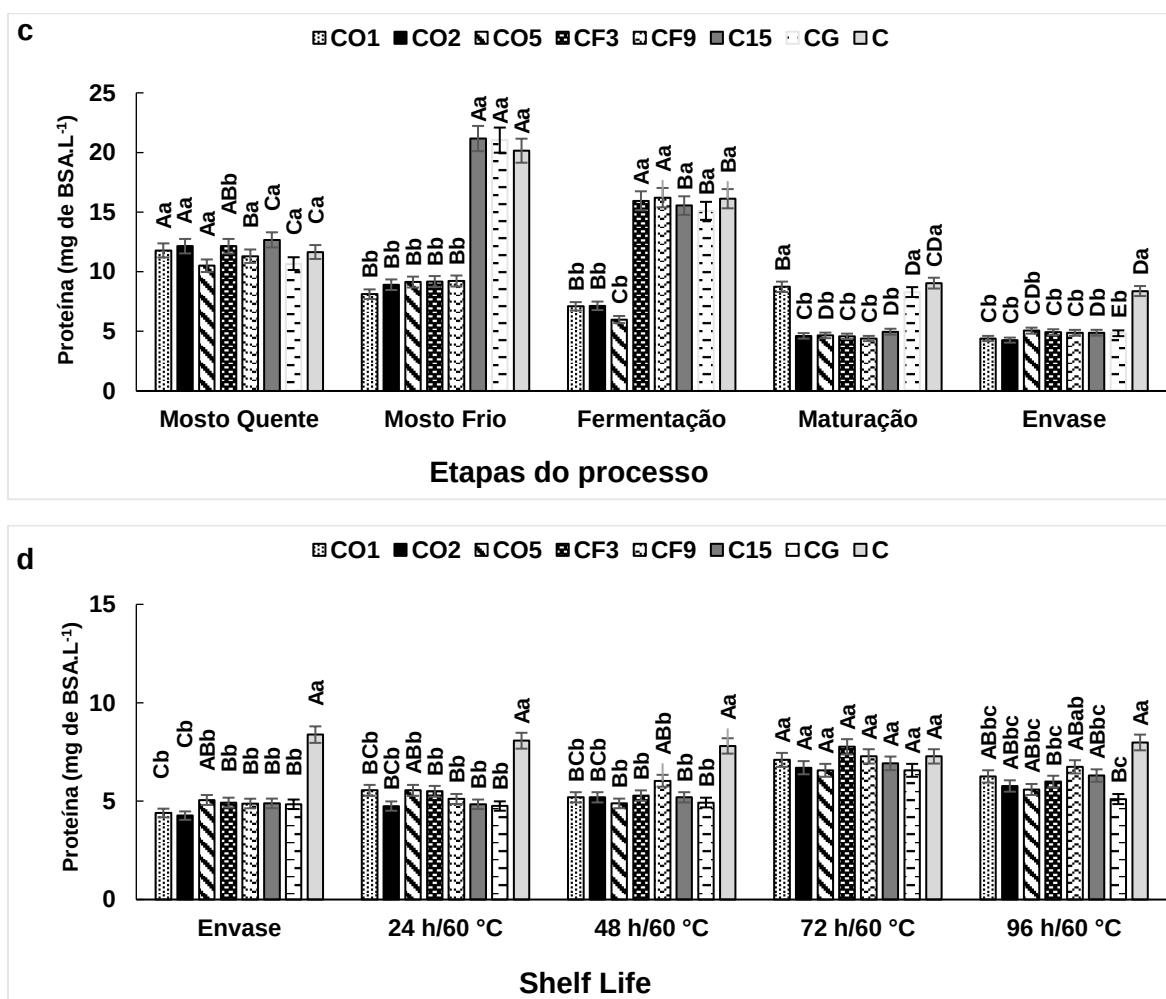
Na maturação é possível observar uma redução significativa ($p < 0,05$) de 41,6, 52,3 e 51,3% nas amostras MF3, MF9 e MF15, respectivamente. O contrário ocorreu com as amostras oxidadas, que apresentaram valores semelhantes a CG e C.

No envase, observou-se que o teor de proteínas totais diminuiu nas amostras oxidadas e CG, sugerindo que a sedimentação pode ter continuado após o engarrafamento, indicando que bagaços testados foram ineficientes. As amostras modificadas por fosfatação mantiveram comportamento semelhante ao da maturação, apontando a estabilidade coloidal do produto. Nas amostras finais de cerveja (envase) foram encontrados valores entre 3,78 e 8,38 mg de BSA.L⁻¹. Cimini e Moresi (2018) obtiveram o valor de 19,2 mg de BSA.L⁻¹ em cervejas submetidas a microfiltração. Essa diferença de proporção pode ser decorrente do extrato de malte utilizado para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao longo do estudo de “shelf life”, notou-se que as amostras fosfatadas tenderam a manter a estabilidade, onde a amostra MF9 foi eficiente até 96 horas de teste, enquanto as amostras oxidadas apresentaram inconstâncias nos resultados. Até o ponto de 48 horas de “shelf life”, todas as amostras e CG apresentaram valores inferiores de proteínas, em relação a cerveja sem clarificante.

A eficiência dos bagaços de mandioca modificados e da goma carragena quanto a remoção parcial de proteínas em diferentes etapas do processo de obtenção de cerveja e estudo de “shelf life” estão na Figura 38.

Figura 38. Avaliação da redução de proteínas utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).



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

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

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

Ao observar as etapas de produção da cerveja (gráfico c), percebeu-se uma redução significativa de proteínas totais entre o mosto quente até o envase. Esse comportamento foi percebido por Saluri, Robal e Tuvikene (2019) ao avaliar cervejas clarificadas com carragenas híbridas. Gassara e colaboradores (2015) também conseguiram uma redução significativa de proteínas totais ao clarificar o mosto com quitina e quitosana. Na avaliação do mosto quente, todas as amostras testadas, assim como CG, comportaram-se como o controle.

A partir do mosto frio, foi possível verificar uma redução de proteínas das amostras oxidadas, em que CO2 e CO5 apresentaram constância nos resultados e eficiência na redução parcial de proteínas, enquanto CO1 sofreu variações nas etapas posteriores, semelhante a CG, indicando que uma sedimentação ocorreu

na garrafa, e consequente instabilidade coloidal do produto final.

Para as amostras fosfatadas, a etapa de fermentação demonstrou um acréscimo na proporção proteica. Isso pode ter ocorrido pela alta quantidade de leveduras presentes no meio, e a velocidade de sedimentação que pode ter ocorrido de forma mais lenta. Logo após, durante a maturação, notou-se um decréscimo significativo ($p < 0,05$), que persistiu após o envase, como nos resultados de compostos fenólicos, sugerindo que esta modificação é eficiente, pois foi capaz de reduzir o teor proteico, além de apresentar maior estabilidade coloidal que CG e a amostra sem clarificante.

Os testes relacionados ao “shelf life” (gráfico d) evidenciaram que, apesar de variações, o produto final manteve-se estável por 48 horas a 60 °C em todas as amostras contendo bagaços modificados.

A amostra sem clarificante destacou-se das outras, apresentando elevados valores, demonstrando que possivelmente as amostras contendo bagaços de mandioca modificados têm potencial para reduzir proteínas.

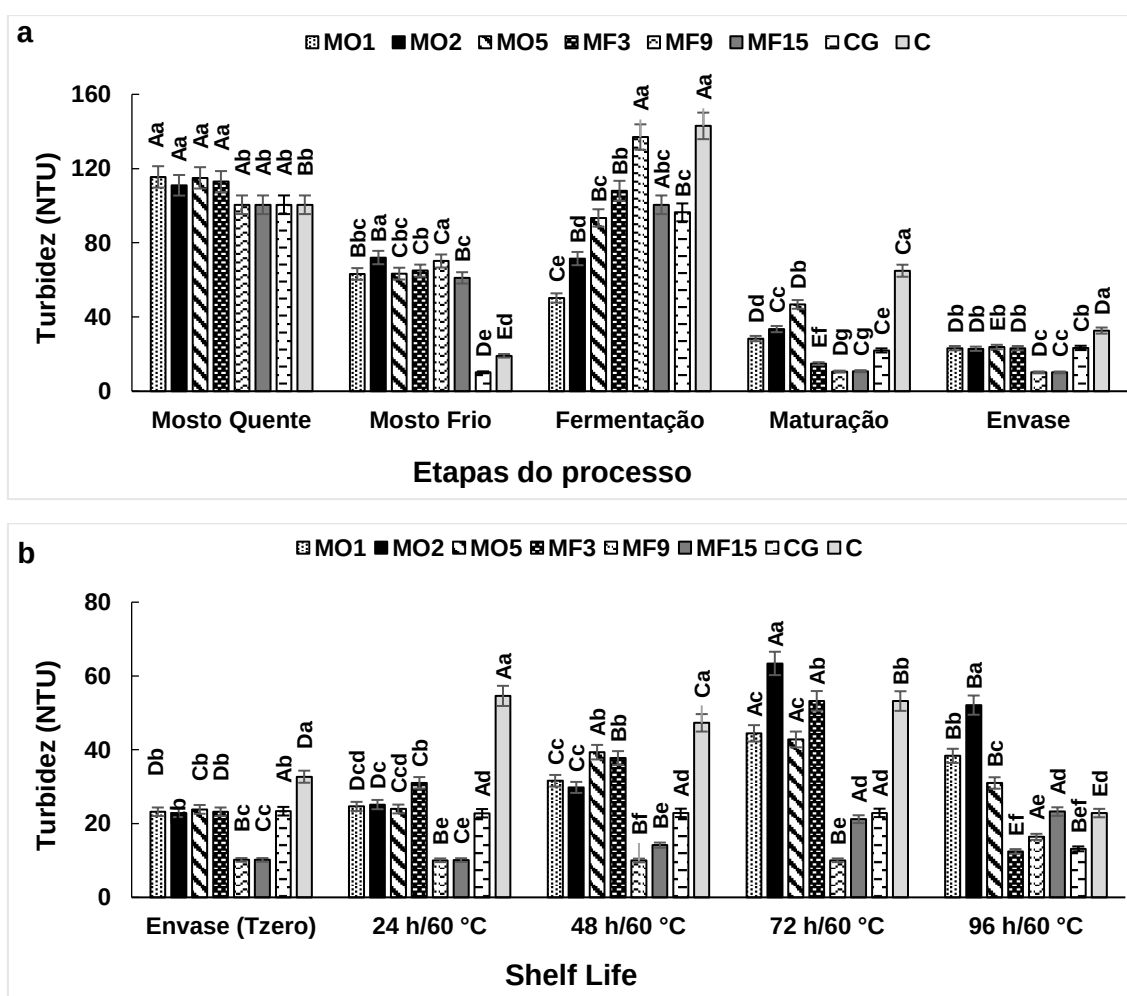
6.5.4 Turbidez

O guia de estilos Beer Judge Certification Program (BJCP) (ENGLAND; WINNIE; WHEELER, 2015) fornece a classificação de mais de 120 estilos e subestilos, criando um conjunto padronizado de descrições de cor, turbidez, aroma, sabor, amargor, características de fermentação, corpo, notas adicionais e dados técnicos (VILLACRECES; BLANCO; CABALLERO, 2022). Essas informações são adotadas mundialmente para descrever cerveja para cervejeiros artesanais e caseiros. Neste trabalho, a avaliação da turbidez é o parâmetro de maior relevância (ponto central). Alguns estilos de cervejas, como a American Lager, são classificados por esse guia como “cerveja clara” e “muito límpida” (baixa turbidez).

As cervejas artesanais muitas vezes não são filtradas e nem pasteurizadas para não comprometer as suas características. No entanto, padronizar a qualidade e alcançar a estabilidade coloidal da bebida durante a vida de prateleira é um requisito para as microcervejarias. Para fazer isso, o desenvolvimento de métodos e flocculantes de baixo custo e de fácil acesso é desejado pelos produtores (VILLACRECES; BLANCO; CABALLERO, 2022). A fim de estudar a viabilidade do

uso de bagaços de malte e de mandioca modificados como agentes clarificadores de cerveja, foi feito o acompanhamento da turbidez durante as etapas do processo de fabricação e “shelf life” acelerado. Os resultados estão dispostos nas Figuras 39 e 40.

Figura 39. Avaliação da redução de turbidez utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).



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

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

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

Pode-se verificar que o mosto quente obteve valores de turbidez elevados para todas as amostras e com o decorrer do processo ocorreu um comportamento semelhante de queda. Entretanto, durante a fermentação, a cerveja tende a ser turva devido à presença de células de levedura e partículas que são agregados de proteínas e polifenóis (VAN DER SMAN et al., 2012). Os valores obtidos nesse estudo variaram entre 10,2 a 32,7 NTU para o produto final. Oliveira (2015)

conseguiu resultados entre 4,75 a 206,98 utilizando amidos de milho e mandioca modificados. De acordo com os resultados mostrados no gráfico a, nas etapas de maturação e envase, MF9 e MF15 apresentaram maior eficiência de clarificação em comparação com as outras amostras testadas e a goma carragena, com uma redução de aproximadamente 69% de turbidez no produto envasado, em relação ao controle. Além disso, os bagaços MO1, MO2, MO5 e MF3 testados foram tão eficientes quanto CG.

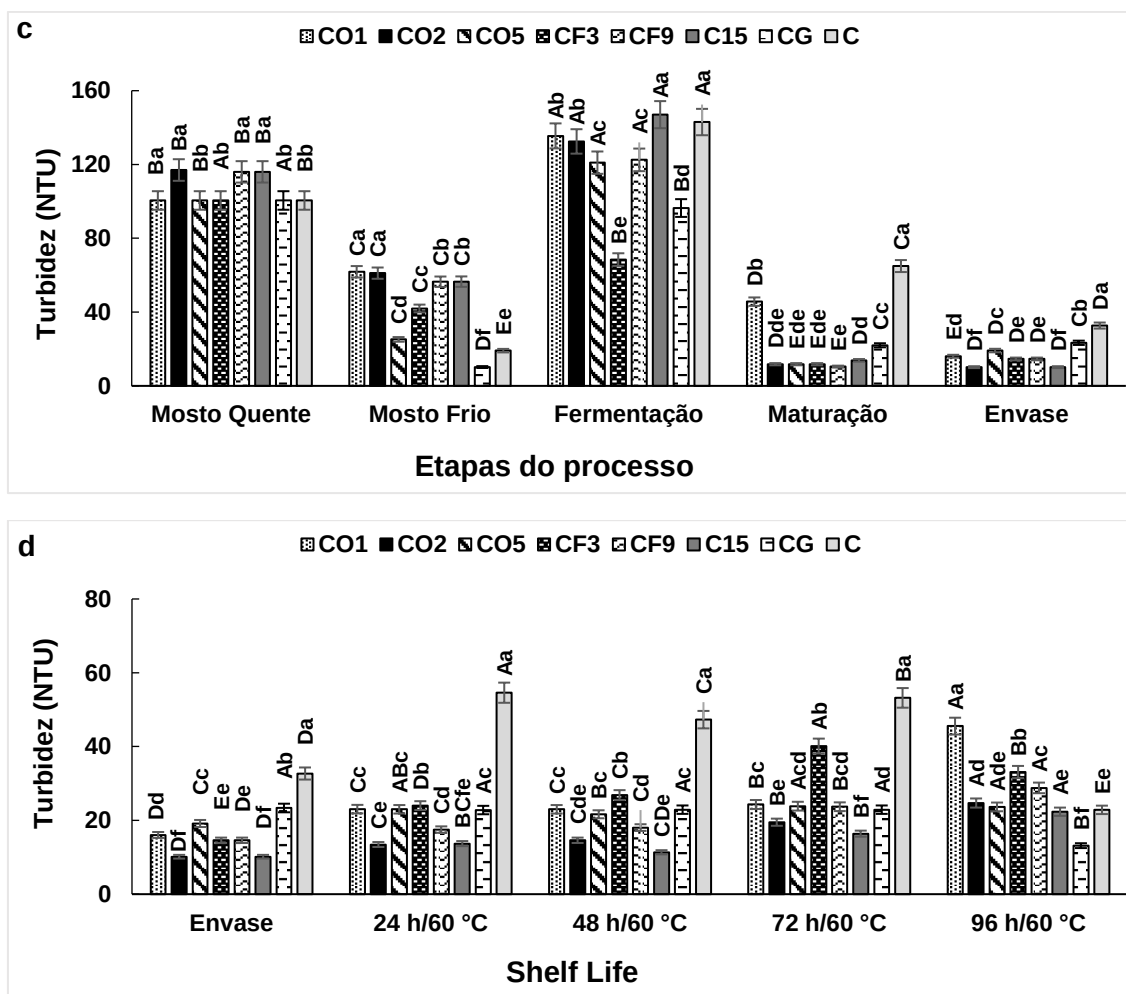
As cervejas devem manter uma qualidade constante durante todo o seu prazo de validade, que muitas vezes pode ultrapassar 12 meses. A estabilidade da cerveja depende de vários fatores, como microbiologia, turbidez, sabor, aroma e estabilidade da espuma (HRABIA et al., 2022). A turbidez obtida no estudo de vida de prateleira (Gráfico b) demonstra que a amostra MF9 foi capaz de manter a estabilidade coloidal da cerveja durante 72 horas a 60 °C, sugerindo que esse bagaço contribui para manter o padrão de qualidade do produto por um longo tempo de armazenamento. Apesar de variações de resultados, até 48 horas de estufa, todas as amostras testadas obtiveram valores de turbidez inferiores ao controle.

Esses resultados, assim como para compostos fenólicos e proteínas, demonstram que os bagaços de malte modificados têm potencial para atuar como floculantes em cerveja artesanal.

Com os bagaços de mandioca modificados (Figura 40), de forma geral, entre o mosto quente e o mosto frio, pode-se notar que as amostras apresentaram valores de turbidez variados ($p < 0,05$). No mosto quente, como o “trub” ainda estava sendo formado, foram obtidos valores elevados, em que as amostras CO2, CF9 e CF15 alcançaram turbidez mais alta que o controle. Já no mosto frio, ocorreu o contrário, e a amostra sem clarificante e CG apresentaram turbidez mais baixa que os bagaços estudados, demonstrando que o processo de clarificação dos bagaços ocorreu de forma mais lenta. Durante a fervura, as proteínas extraídas dos grãos são desnaturadas, fazendo com que coagulem e formem grandes flocos que precipitam em um processo denominado “hot break”. Os polifenóis também extraídos dos grãos e do lúpulo se ligam às proteínas não precipitadas durante a fervura e causam um complexo precipitante e/ou turbidez a baixas temperaturas, pela reação denominada “cold break”. As proteínas não eliminadas nessa etapa podem turvar a cerveja durante o armazenamento em um defeito denominado “chill haze”, onde as proteínas se ligam aos polifenóis e turvam a cerveja a frio e são

ressuspensas em solução assim à temperatura ambiente (VILLACRECES; BLANCO; CABALLERO, 2022).

Figura 40. Avaliação da redução de turbidez utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como flocculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).



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

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

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

Após a maturação foram obtidas cervejas mais límpidas a partir dos bagaços CO2, CO5, CF3, CF9 e CF15. As amostras CO2 e CF15 mantiveram a estabilidade entre a maturação e o envase, reduziram a turbidez em 68,8% comparado ao controle, além de apresentarem maior eficiência que CG, sugerindo ter capacidade de atuar como flocculantes em cerveja artesanal. Também é válido destacar que, nas amostras engarrafadas, o controle apresentou a turbidez mais alta. Saluri, Robal e Tuvikene (2019) e Gassara e colaboradores (2015) também obtiveram produtos finais com turbidez reduzida, em comparação ao mosto inicial.

A maioria dos estudos de envelhecimento foi focada em cervejas industriais, então os processos em cervejas artesanais são menos compreendidos (HRABIA et al., 2022). Entre os bagaços de mandioca modificados, as amostras CF3, e CF9, apesar de apresentarem turbidez inferior ao controle, tiveram variações expressivas durante o período de armazenamento. Zhao e Sun-Waterhouse (2018) mencionaram que a instabilidade física, também conhecida como instabilidade coloidal, é um dos principais atributos da qualidade da cerveja. A formação de turbidez (pós-embalagem) prejudica grandemente a estabilidade física e é conhecida por causar redução da qualidade e da vida útil da cerveja. A interação proteína-polifenol explica, em grande parte, a formação de turvação na cerveja, com contribuições significativas da interação polissacarídeo-ácido tânico e outros fatores de influência, como pH, temperatura, oxigênio e força iônica. Por outro lado, observou-se durante o período de “shelf life” que os bagaços CO2 e CF15, mesmo com pequenas oscilações ($p < 0,05$), foram eficientes em manter a estabilidade coloidal da cerveja, e permaneceram com turbidez mais baixa que CG até 72 horas a 60 °C. Esses resultados são correspondentes aos encontrados nas avaliações de compostos fenólicos e proteínas, demonstrando que esses bagaços podem ter ação como floclulantes desses compostos.

6.5.5 Absorbância a 600 nm

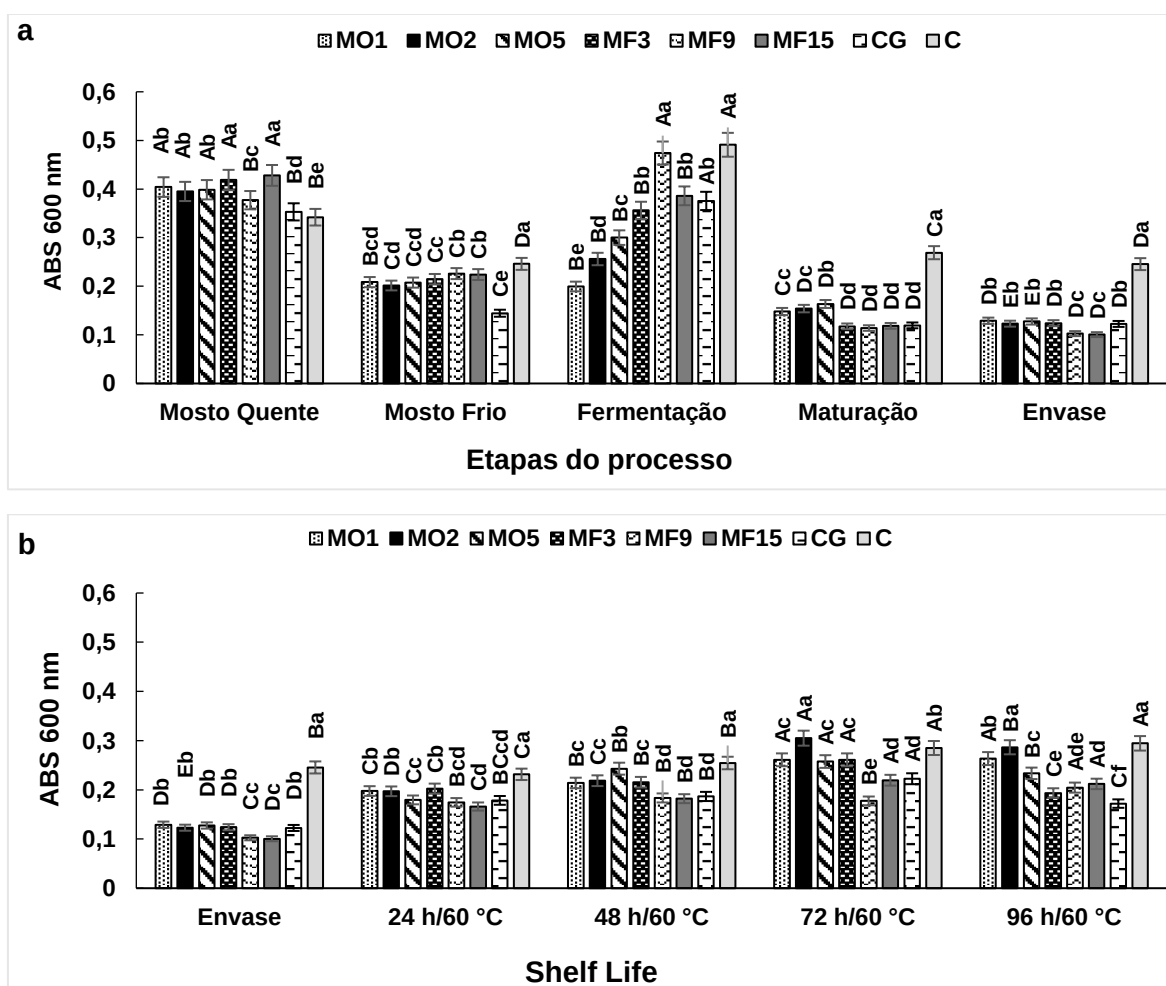
O aspecto visual da cerveja é comumente relacionado com a qualidade, pois para muitos estilos, ainda se espera um produto límpido e com ausência de precipitados. Para alcançar um padrão assim, é imprescindível controlar o processo de fabricação e utilizar técnicas e/ou agentes clarificadores que contribuam com a obtenção de uma bebida com essas características. A turvação da cerveja pode ser causada por várias reações químicas, como metálica (HRABIA et al., 2022), oxidativa (LEKJING; VENKATACHALAM, 2022), sendo a mais comum pela formação de complexos proteínas-polifenóis (GASSARA et al., 2015; SALURI; ROBAL; TUVIKENE, 2019), que podem reagir lentamente durante o processo de estocagem.

A análise de espectrofotometria pode ser aplicada na cerveja (DALE; MORRIS; LYDDIATT, 1995). Briggs e colaboradores (2004) observaram que a claridade do mosto, além do turbidímetro, também pode ser medida por absorbância a 600 nm, e quanto maior for o valor obtido menos claro será o mosto

ou a cerveja, devido a presença de partículas em suspensão que dificultam a passagem de luz.

A partir das leituras realizadas durante o processo de obtenção das cervejas, verificou-se que o comportamento dos resultados foi concordante com as avaliações de turbidez para ambas as fontes botânicas, malte e mandioca, evidenciando a coerência do estudo e da eficiência de clarificação dos bagaços. Os dados estão expressos nas Figuras 41 e 42.

Figura 41. Avaliação da redução da absorbância utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (a) e shelf life (b).



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

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

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

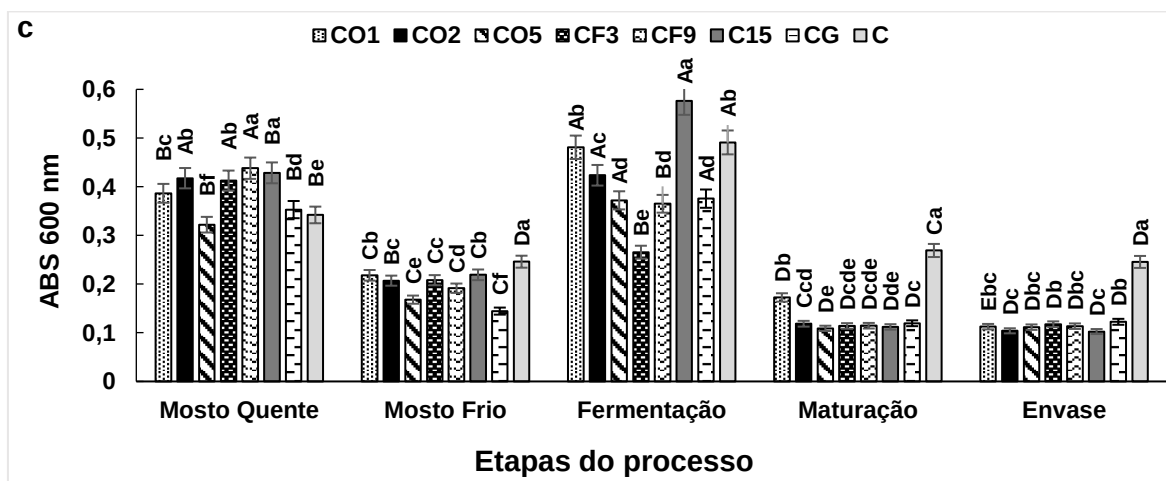
Ao avaliar as etapas do processo, notou-se que CG e o controle tem uma queda expressiva entre o mosto quente e o mosto frio, que, assim como na avaliação de turbidez, indicam que a ação dos bagaços de malte modificados

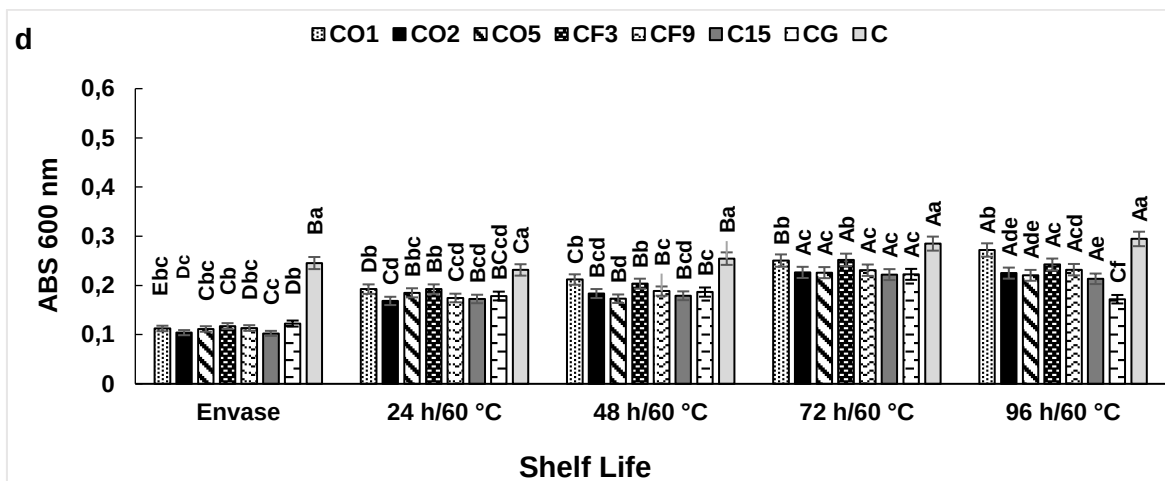
ocorre mais lentamente e nas etapas posteriores, pois a partir da maturação foi verificada uma redução significativa de absorvância ($p < 0,05$), principalmente para as cervejas fosfatadas, que mantiveram-se estáveis após essa etapa. Para as amostras oxidadas de bagaço de malte, houve uma redução dos valores após o envase, sinalizando uma possível precipitação no produto final.

Ao longo do armazenamento, a amostra MF9, mais uma vez, destacou-se na estabilidade, pois até 72 horas de “shelf life” foi a mais eficiente em manter a constância dos resultados. Até 48 horas de estufa, o controle foi superior a todas as amostras testadas, indicando que, apesar de variações na estabilidade coloidal, os bagaços têm atividade clarificante.

A claridade observada ao longo das etapas de produção de cerveja artesanal em amostras com bagaço de mandioca modificados foi observada a partir da etapa de maturação. Isso ocorre por que com o resfriamento há uma sedimentação por gravidade, aumentando a limpidez da cerveja e esta reação pode ser aprimorada pela adição de um agente clarificante (OLIVEIRA, 2015).

Figura 42. Avaliação da redução da absorvância utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como flocculante durante as etapas do processo produtivo de cerveja (c) e shelf life (d).





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

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

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

Assim como CG, as amostras CO2, CO5, CF3, CF9 e CF15 foram eficientes em diminuir a absorbância. A amostra CO1 teve uma redução no resultado na etapa de envase, sugerindo que houve formação de precipitado após o engarrafamento. Estes valores estão condizentes com a avaliação de turbidez, sustentando a hipótese que o bagaço de mandioca oxidado em concentrações mais elevadas e a fosfatação em diferentes concentrações podem ser uma opção viável para a floculação de proteínas em cerveja artesanal.

O engarrafamento de cerveja é a técnica tradicional de embalagem e preservação usada para prolongar a vida útil e permitir a maturação ou envelhecimento, além de evitar a sua deterioração. No entanto, a vida de prateleira da cerveja é limitada principalmente por sua cor, sabor, corpo, natureza coloidal e carga microbiana indesejável (HRABIA et al., 2022; LEKJING; VENKATACHALAM, 2022). Nos testes realizados, as amostras CO5 e CF15 mantiveram a estabilidade da absorbância por 48 horas de estufa, assim como CG. Embora após esse período os valores tenderam a aumentar, o controle apresentou a maior turbidez em todos os tempos de “shelf life”, reforçando a tese de que os bagaços modificados podem atuar na limpidez da cerveja.

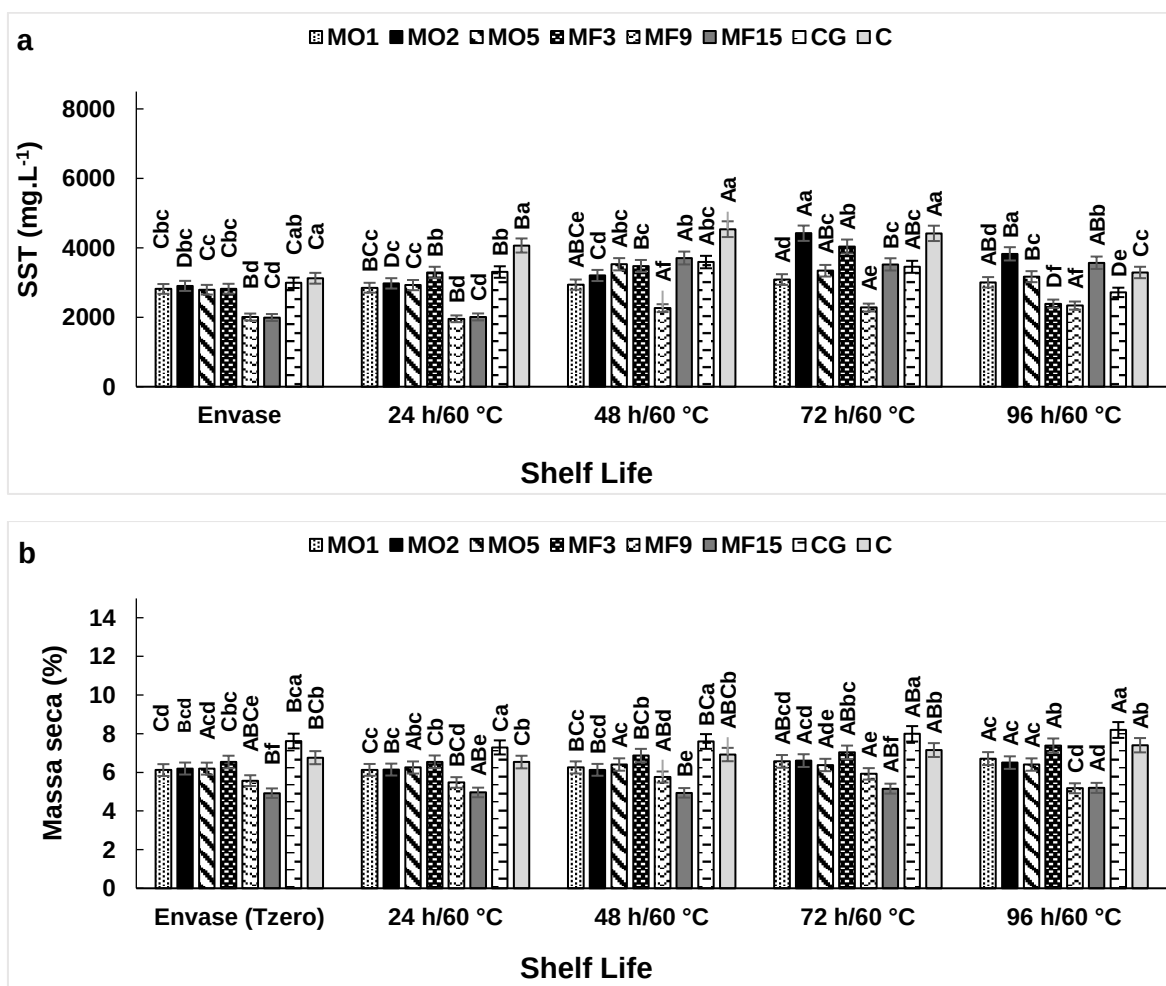
6.5.6 Sólidos suspensos e massa seca do “trub” decantado

Foram determinados os sólidos suspensos totais e a massa seca do “trub” decantado nas etapas de produção de cerveja (anexos III.5 e III.6) e no

armazenamento. O efeito dos bagaços de malte e de mandioca são dados nos gráficos 43 e 44, respectivamente.

A finalidade de estudar a concentração de sólidos suspensos e decantados no fundo do tubo foi investigar se, principalmente, durante o processo de envelhecimento, as mudanças químicas contínuas que ocorrem na cerveja afetam seriamente a qualidade pós-engarrafamento, pois, no decorrer da pesquisa, foi percebido que algumas amostras, ainda que com valores mais baixos de compostos fenólicos, proteínas e turbidez, após o envase, continuaram a precipitação de proteínas, formando um decantado no fundo da garrafa, o que impactou negativamente no aspecto visual da bebida, além de indicar que a estabilidade coloidal foi prejudicada.

Figura 43. Avaliação de sólidos suspensos totais (a) e massa seca (b) utilizando bagaço de malte oxidado e fosfatado como floculante durante o shelf life.



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

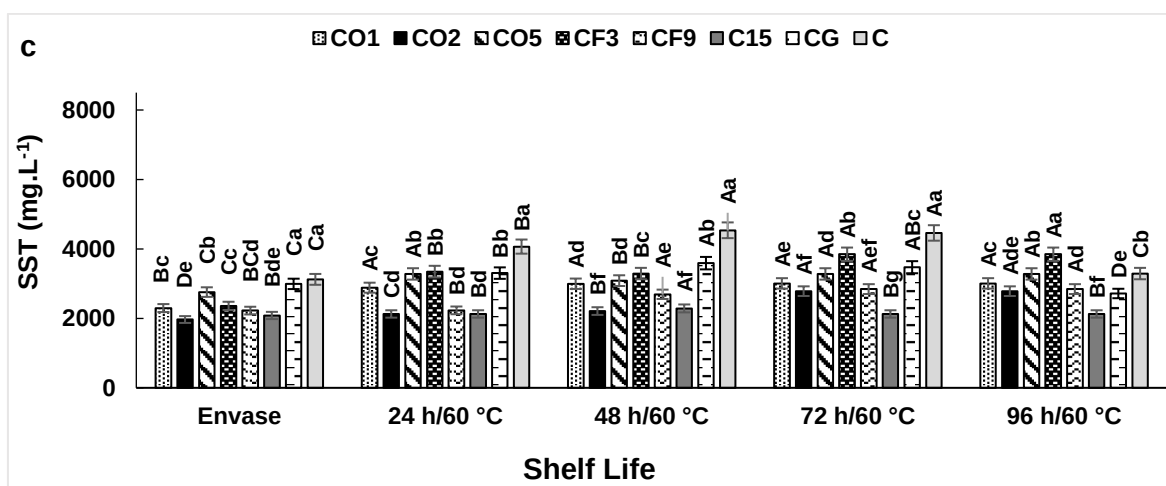
**Valores com letras maiúsculas diferentes em uma mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

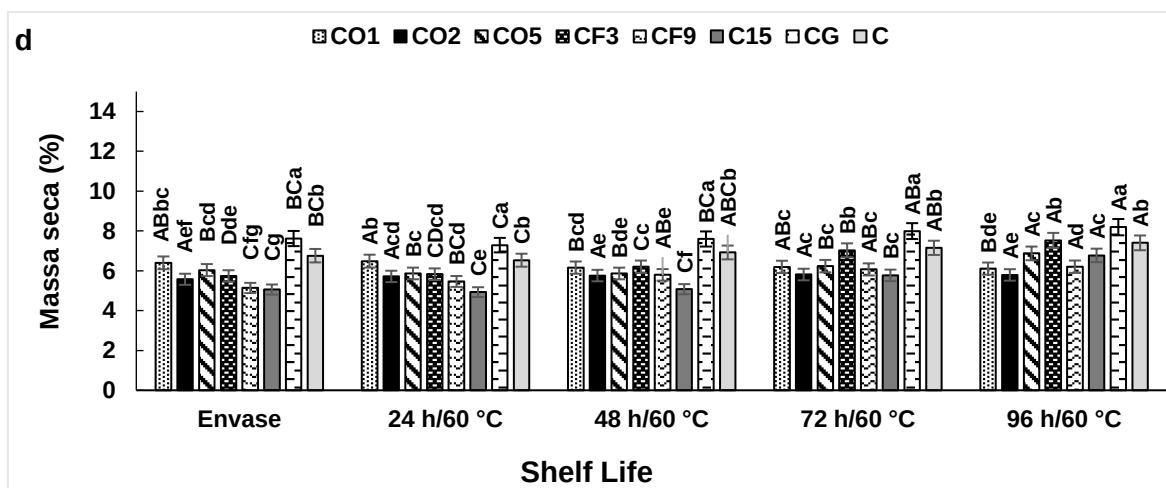
***Valores com letras minúsculas diferentes em uma mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Nas amostras que utilizaram bagaço de malte como clarificantes, observou-se que as amostras CF9 e CF15 apresentaram valores mais baixos de SST até 24 horas de armazenamento, com redução de 35,8 e 36,2%, respectivamente, e, após CF9 continuou com valores inferiores até 96 horas testadas. Essa tendência foi verificada também na avaliação da massa seca, confirmando que os resultados relacionados com a turbidez são coerentes e que as proteínas que causam turvação da cerveja foram efetivamente eliminadas, já que depois do envase os resultados demonstram estabilidade coloidal nessa amostra. As amostras oxidadas tiveram constância na avaliação da massa seca, mas sofreram variação de SST, possivelmente por que as reações proteínas-polifenol continuaram ocorrendo e os flocculantes não foram eficientes quanto CF9.

O bagaço de mandioca testado como clarificante conseguiu uma redução de SST no envase de 11,7 (CO5) a 37% (CO2), enquanto CG obteve apenas 4,2%, indicando que mesmo os bagaços modificados com menor eficiência foram melhores que a goma carragena. Até 24 horas de armazenamento, as amostras fosfatadas permaneceram estáveis ($p > 0,05$). Já em relação a massa seca, CO2, CO5 e CF15 mantiveram os resultados, sugerindo que essas amostras podem ser aplicadas como flocculantes eficientes em estabilizar a cerveja. Foi observado que CG e o controle tiveram alternâncias nos dois parâmetros avaliados, além de apresentar valores mais altos que os bagaços em quase todos os tempos de “shelf life” avaliados.

Figura 44. Avaliação de sólidos suspensos totais (a) e massa seca (b) utilizando bagaço de mandioca oxidado e fosfatado como flocculante durante o shelf life.





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

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

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

6.5.7 Caracterização físico-química da cerveja

Na Tabela 23 encontram-se os resultados obtidos das análises de pH, teor alcoólico, acidez, amargor, cor, brix final, extrato original ou primitivo, extrato real e grau de fermentação.

Tabela 23. Avaliação das características físico-químicas da cerveja avaliada após o envase.

Tratamentos	Turbidez (NTU)								
	pH	Teor Alcoólico (°GL)	Acidez (g/L. H ₂ SO ₄)	Amargor (IBU)	Cor (EBC)	Brix Final (°)	Extrato Primitivo (% m/m)	Extrato Real (% m/v)	Grau Real de Fermentação (%)
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	4,60 ± 0,01 ^a	4,42 ± 0,08 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	19,75 ± 0,78 ^a	57,00 ± 0,7 ^a	7,06 ± 0,05 ^a	13,71 ± 0,01 ^b	5,23 ± 0,01 ^b	66,55 ± 0,03 ^e
MO2	4,56 ± 0,01 ^{bc}	4,45 ± 0,15 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	20,25 ± 1,13 ^a	56,13 ± 1,0 ^a	6,98 ± 0,08 ^a	13,67 ± 0,02 ^b	5,12 ± 0,02 ^b	67,29 ± 0,09 ^{de}
MO5	4,57 ± 0,01 ^{abc}	4,50 ± 0,19 ^a	0,07 ± 0,003 ^a	20,50 ± 1,27 ^a	56,85 ± 0,6 ^a	7,07 ± 0,12 ^a	13,72 ± 0,13 ^b	5,08 ± 0,13 ^b	67,82 ± 0,64 ^{cd}
MF3	4,55 ± 0,00 ^c	4,44 ± 0,04 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	20,65 ± 1,70 ^a	56,70 ± 1,0 ^a	7,03 ± 0,06 ^a	13,54 ± 0,02 ^{bc}	5,00 ± 0,02 ^{bc}	67,83 ± 0,08 ^{cd}
MF9	4,57 ± 0,01 ^{abc}	4,44 ± 0,12 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	20,15 ± 0,92 ^a	56,68 ± 0,7 ^a	7,03 ± 0,06 ^a	13,32 ± 0,03 ^{cd}	4,77 ± 0,03 ^c	68,89 ± 0,17 ^{bc}
MF15	4,59 ± 0,01 ^{ab}	4,55 ± 0,16 ^a	0,07 ± 0,003 ^a	19,10 ± 1,13 ^a	56,23 ± 1,1 ^a	6,97 ± 0,06 ^a	13,17 ± 0,03 ^d	4,41 ± 0,03 ^d	71,34 ± 0,16 ^a
CG	4,56 ± 0,00 ^{bc}	4,49 ± 0,11 ^a	0,06 ± 0,001 ^a	20,45 ± 1,48 ^a	57,23 ± 0,8 ^a	6,97 ± 0,15 ^a	13,37 ± 0,01 ^{cd}	4,73 ± 0,02 ^c	69,44 ± 0,08 ^b
C	4,56 ± 0,01 ^{bc}	4,46 ± 0,11 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	20,73 ± 0,88 ^a	58,43 ± 1,3 ^a	7,03 ± 0,06 ^a	15,07 ± 0,14 ^a	6,58 ± 0,15 ^a	61,11 ± 0,57 ^f
Bagaços de mandioca adicionados na maturação									
CO1	4,56 ± 0,01 ^a	4,50 ± 0,15 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	19,68 ± 1,66 ^a	57,43 ± 1,5 ^a	7,00 ± 0,10 ^a	13,54 ± 0,03 ^c	4,88 ± 0,03 ^c	68,74 ± 0,13 ^c
CO2	4,59 ± 0,01 ^a	4,54 ± 0,17 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	20,33 ± 0,46 ^a	56,35 ± 1,5 ^a	7,07 ± 0,12 ^a	13,46 ± 0,06 ^c	4,73 ± 0,07 ^{cd}	69,70 ± 0,33 ^{bc}
CO5	4,56 ± 0,01 ^a	4,49 ± 0,15 ^a	0,07 ± 0,003 ^a	19,55 ± 1,34 ^a	55,25 ± 2,5 ^a	7,03 ± 0,06 ^a	13,35 ± 0,00 ^{cd}	4,71 ± 0,00 ^{cde}	69,53 ± 0,01 ^{bc}
CF3	4,58 ± 0,01 ^a	4,48 ± 0,17 ^a	0,07 ± 0,003 ^a	20,33 ± 1,94 ^a	56,50 ± 0,7 ^a	6,93 ± 0,15 ^a	13,80 ± 0,03 ^b	5,20 ± 0,03 ^b	67,08 ± 0,15 ^d
CF9	4,57 ± 0,00 ^a	4,46 ± 0,16 ^a	0,07 ± 0,004 ^a	19,48 ± 0,81 ^a	56,13 ± 2,3 ^a	7,03 ± 0,06 ^a	13,15 ± 0,07 ^d	4,55 ± 0,07 ^{de}	70,14 ± 0,36 ^{ab}
CF15	4,56 ± 0,01 ^a	4,52 ± 0,10 ^a	0,07 ± 0,003 ^a	20,93 ± 1,87 ^a	56,58 ± 2,7 ^a	6,93 ± 0,06 ^a	13,17 ± 0,02 ^d	4,47 ± 0,02 ^e	70,91 ± 0,10 ^a
CG	4,56 ± 0,00 ^a	4,49 ± 0,11 ^a	0,06 ± 0,001 ^a	20,45 ± 1,48 ^a	57,23 ± 0,8 ^a	6,97 ± 0,15 ^a	13,37 ± 0,01 ^{cd}	4,73 ± 0,02 ^{cd}	69,44 ± 0,08 ^{bc}
C	4,56 ± 0,01 ^a	4,46 ± 0,11 ^a	0,07 ± 0,001 ^a	20,73 ± 0,88 ^a	58,43 ± 1,3 ^a	7,03 ± 0,06 ^a	15,07 ± 0,14 ^a	6,58 ± 0,15 ^a	61,11 ± 0,57 ^e

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

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

A qualidade de produtos alimentícios e bebidas pode ser verificada por avaliação microbiológica, físico-química e sensorial. Para as cervejas, como a American Lager, o guia de estilos Beer Judge Certification Program (BJCP) (ENGLAND; WINNIE; WHEELER, 2015) e a Legislação (BRASIL, 2019; BRASIL, 2009) apresentam especificações que determinam se o produto está de acordo com o estilo.

Observa-se que as cervejas produzidas com bagaço de malte modificado apresentam valores de pH que variaram entre 4,55 a 4,60. Apesar da diferença estatística entre as amostras, todas mantiveram-se dentro do padrão, assim como os resultados obtidos para teor alcoólico, acidez e brix final. Esse comportamento já era esperado, pois o objetivo proposto no estudo foi melhorar a limpidez da cerveja, sem alterar as características do estilo.

O amargor corresponde à presença de alfa-ácidos do lúpulo adicionados durante a fervura. Foram encontrados valores próximos a 20 IBU, ficando ligeiramente acima do esperado, pois o BJCP determina uma variação de 8 a 18 IBU. Isso pode ter ocorrido porque a formulação utilizou o lúpulo Citra, que contém um percentual de alfa-ácidos mais elevado do que o lúpulo Saaz, que é mais comumente utilizado em cervejas desse estilo. Schuina (2018) avaliou cervejas comerciais e encontrou valores entre 7 a 10 IBU.

A cor das amostras contendo bagaços de malte modificados ficou entre 56,13 e 58,43, o que é acima do estabelecido. Isso pode ser explicado pela utilização de extrato de malte utilizado durante a fabricação.

Em relação ao extrato real, foi observada variação entre as amostras, em que o controle atingiu o maior percentual. Esses resultados são concordantes com os apresentados na avaliação de sólidos suspensos totais, indicando que os clarificantes utilizados foram eficientes, pois a presença de proteína influencia no aumento desse valor. Mesmo assim, todas as amostras ficaram na faixa esperada para o estilo. A diferença estatística no extrato primitivo e grau real de fermentação ocorre porque são realizados por cálculos que envolvem os resultados de extrato real.

As cervejas contendo bagaço de mandioca modificado apresentaram resultados semelhantes de pH, teor alcoólico, acidez e brix final, mantendo-se dentro das características de American Lager. Outros autores encontraram valores

semelhantes (BRUNELI; MANSANO; VENTURINI FILHO, 2014; LEKJING; VENKATACHALAM, 2022; OLIVEIRA, 2015).

Todas as formulações testadas obtiveram valores de amargor e cor mais elevados do que o especificado no BJCP. Isso ocorreu devido às adaptações do processo, como a utilização do lúpulo Citra e do extrato de malte. Esses resultados estão voltados à caracterização do produto final e não tiveram impacto no objetivo do estudo, que está ligado a turbidez e estabilidade da cerveja. Isso pode ser confirmado pela semelhança entre todas as amostras ($p > 0,05$).

O percentual de extrato real indica a quantidade de ingredientes não transformados em álcool que são encontrados na cerveja depois da fermentação, variando de acordo com o teor de sólidos solúveis totais. Os valores estipulados pela legislação estão entre 3,7 a 4,8% (BRASIL, 2019; BRASIL, 2009). Pode-se observar que CF3 e o controle (C) encontram-se acima do limite, demonstrando que os demais bagaços agiram eficientemente na redução de proteínas.

Os resultados de extrato primitivo, obtidos das cervejas contendo bagaço de mandioca modificado, as classificam em cervejas extra e forte (BRASIL, 2019)(BRASIL, 2009). Para a análise de grau real de fermentação, apenas a amostra controle ficou abaixo do limite. Como esses resultados estão ligados ao extrato real, em teoria, os bagaços atuaram como clarificantes eficientes na remoção de proteínas, facilitando a fermentação e as etapas subsequentes.

6.6 Conclusões

Os bagaços modificados apresentaram influência positiva na clarificação da cerveja artesanal. Apesar de durante a avaliação inicial de sedimentação (teste rápido) a goma carragena apresentar melhor desempenho, alguns bagaços foram mais eficientes nas etapas subsequentes, mostrando que sua ação clarificante ocorre após a fermentação.

Os bagaços de malte modificados por fosfatação apresentaram resultados interessantes durante as etapas do processo e no período de estudo de vida de prateleira, sinalizando serem eficientes para eliminar parcialmente a proteína e manter a estabilidade coloidal da cerveja, contribuindo para a qualidade do produto final.

De acordo com o comportamento dos bagaços de mandioca diante das análises que foram submetidas, observou-se que a oxidação e a fosfatação se apresentam como alternativas viáveis para a clarificação e estabilidade de cerveja artesanal, durante o processo e tempo de armazenamento.

Foi possível verificar que a utilização de bagaços modificados não influenciou nas características físico-químicas da cerveja.

De forma geral, sugere-se que os bagaços de malte e de mandioca são bons agentes clarificantes de cerveja artesanal e a fonte botânica assim como as modificações influenciaram no potencial de floculação de proteínas. No entanto, adicionar cargas negativas nesses materiais, faz-se uma opção para aplicação no processo cervejeiro.

Referências

- ANDERSON, H. E. et al. A Review of the Analytical Methods used for Beer Ingredient and Finished Product Analysis and Quality Control. **Analytica Chimica Acta**, p. 1–20, 2019.
- BERNARDI, G. DOS S. et al. Microfiltration for Filtration and Pasteurization of Beers. In: BEVERAGES, T. S. OF (Ed.). **Engineering Tools in the Beverage Industry**. 3. ed. Elsevier Inc., 2019. p. 405-434. 2019.
- BOGDAN, P.; KORDIALIK-BOGACKA, E. Alternatives to malt in brewing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 65, p. 1–9, 2017.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Anal Biochem.**, v. 72, n. Mosmann, p. 2448–254, 1976.
- BRASIL. **Decreto n. 2.314, de 4 de setembro de 1997. Regulamenta a lei Nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 6871, de 04 de junho de 2009. Diário Oficial da União, Brasília 05/06/2009**MAPA, Ministério da Agricultura, pecuária e Abastecimento, 2009.
- BRASIL. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 65, DE 10 DE DEZEMBRO DE 2019**. 2019.
- BRIGGS, D. E. et al. **Brewing: science and practice**. 1. ed. New York: CRC Press, 2004.
- BRUNELI, L. T.; MANSANO, A. R.; VENTURINI FILHO, W. G. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 19–27, 2014.
- CIMINI, A.; MORESI, M. Combined enzymatic and crossflow microfiltration process to assure the colloidal stability of beer. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, n. December 2017, p. 132–137, 2018.
- DALE, C. J.; MORRIS, L. O.; LYDDIATT, A. STUDIES ON THE MOLECULAR BASIS OF WORT CLARIFICATION BY COPPER FINING AGENTS (KAPPA CARRAGEENAN). **-Journal of the Institute of Brewing**, v. 101, n. July-August, p. 285–288, 1995.
- EBC, E. B. C. **Analytica-EBC. 9 - Beer**. **Anais...Nürnberg: Fachverlag Hans Carl: 2010**.
- ENGLAND, K.; WINNIE, M.; WHEELER, T. **BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM**. 2015.
- GASSARA, F. et al. Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 80–85, 2015.
- HRABIA, O. et al. Effect of dry hopping on the oxidative stability of beer. **Food Chemistry**, v. 394, n. May, p. 133480, 2022.

IAL, I. A. L. 1ª Edição Digital. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**, v. 9, p. 453–460, 2008.

JAKUBOWSKI, M. et al. An assessment of the potential of shadow sizing analysis and Particle Image Velocimetry (PIV) to characterise hot “trub” morphology. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 34–41, 2016.

KERR, R. W.; CLEVELANAND, F. C. J. **Process of adding starch phosphates to paper pulp containing titanium dioxide to improve retention thereof**New York, USA, 1964. Disponível em: <<https://patentimages.storage.googleapis.com/c3/48/1b/c42898488bf5d6/US3132066.pdf>>

LEKJING, S.; VENKATACHALAM, K. Quality changes of HomChaiya rice beer during storage at two alternative temperatures. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 133, n. 4, p. 369–374, 2022.

MAPA. **Anuário da cerveja 2020 - Ministério da Agricul**, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>>

NIU, C. et al. Malt derived proteins: Effect of protein Z on beer foam stability. **Food Bioscience**, v. 25, n. October 2017, p. 21–27, 2018.

OLIVEIRA, M. D. DE. **Aplicação de amido modificado no processo de clarificação de cerveja artesanal**. Dissertação de Mestrado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão - PR, 2015.

PARKER, D. K. Beer: Production, sensory characteristics and sensory analysis. **Alcoholic Beverages: Sensory Evaluation and Consumer Research**, p. 133–158, 2011.

POREDA, A. et al. Effects of wort clarifying by using carrageenan on diatomaceous earth dosage for beer filtration. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, n. 4, p. 392–397, 2015.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química Nova**, v. 37, n. 2, p. 98–105, 2015.

SALURI, M.; ROBAL, M.; TUVIKENE, R. Hybrid carrageenans as beer wort fining agents. **Food Hydrocolloids**, v. 86, p. 26–33, 2019.

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

SCHUINA, G. L. **Utilização de plantas amargas em substituição ao lúpulo na produção de cerveja artesanal tipo american lager**. Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus Ibilce, 2018.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e Caracterização de um Isolado Proteico de Soja Modificado com Perfil de Solubilidade da Caseína do Leite Humano**. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

VAN DER SMAN, R. G. M. et al. Review of hypotheses for fouling during beer clarification using membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 396, p. 22–31, 2012.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas**. 1. ed. São Paulo - SP. Blucher. 2010.

VILLACRECES, S.; BLANCO, C. A.; CABALLERO, I. Food Bioscience Developments and characteristics of craft beer production processes. **Food Bioscience**, v. 45, n. September 2021, p. 101495, 2022.

WARD, I. L. **Wort e beer clarification manual**. Disponível em: <https://bsgcraftbrewing.com/Resources%5CCraftBrewing%5CPDFs%5CBrewing_Processes_and_Techniques/WortandBeerFiningManual.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2019.

ZENATTI, D. C. et al. Quantificação de açúcares redutores em hidrolisado do bagaço da mandioca para uso na produção de metano. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 4, n. 2238–8753, p. 616–627, 2015.

ZHAO, H.; SUN-WATERHOUSE, D. **Interactions Between Proteins and Polyphenols in Beer**. Elsevier, v. 2. 2018.

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

CONCLUSÃO GERAL

Os bagaços apresentaram composição centesimal dentro de valores encontrados na literatura, sendo que o pré-tratamento foi eficiente nas duas fontes botânicas estudadas.

A granulometria foi eficiente em reduzir as partículas das amostras modificadas, onde o bagaço de mandioca oxidado obteve um rendimento menor, em comparação com as outras amostras. O moinho de bolas forneceu uma moagem mais fina.

As análises térmicas demonstraram que os tratamentos alcalino em bagaço de malte e ácido em bagaço de mandioca modificaram as características do material e causaram a exposição da celulose para as modificações.

As modificações químicas de oxidação e fosfatação nos bagaços de malte e mandioca foram eficientes em adicionar diferentes proporções de cargas negativas ao variar a concentração e o tipo de reagente.

Em um aspecto global, sugere-se que os bagaços podem ter potencial para clarificação de cerveja artesanal. A utilização de agentes clarificantes pode influenciar na floculação de proteínas e na obtenção de um produto mais limpo e com estabilidade coloidal.

As análises realizadas na cerveja demonstraram que os bagaços modificados atuaram como floculantes, e, em várias etapas, mais eficientes que a goma carragena, além de contribuir para manter o produto nas condições de envase durante um longo tempo de armazenamento.

De acordo com os dados experimentais obtidos durante a realização deste trabalho, sugere-se que modificar bagaço de malte e de mandioca, carregando-os negativamente, e fazer aplicação em cervejas podem promover a atuação clarificante, provavelmente através da formação de complexos e interações com as proteínas do mosto. A aplicação desses bagaços modificados pode ser um atrativo para as microcervejarias, pelo fácil acesso e baixo custo, além de ser uma alternativa ambientalmente viável.

ANEXOS III

Anexo III.1. Avaliação do teor de compostos fenólicos totais durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Tratamentos	Teor de compostos fenólicos totais (mg de EAG.L ⁻¹)								
	Mosto quente	Mosto frio	Fermentação	Maturação	Envase / Início Shelf-life (Tzero)	Shelf-life 24 horas a 60 °C	Shelf-life 48 horas a 60 °C	Shelf-life 72 horas a 60 °C	Shelf-life 96 horas a 60 °C
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	925,4 ± 22,6 ^{Aa}	856,4 ± 25,5 ^{ABa}	747,4 ± 7,1 ^{Ca}	837,4 ± 17,0 ^{ABCb}	789,9 ± 44,5 ^{BCab / A}	761,9 ± 33,2 ^{Aab}	766,9 ± 12,0 ^{Ad}	740,4 ± 33,9 ^{Ab}	756,4 ± 4,2 ^{Ab}
MO2	893,4 ± 19,8 ^{Aa}	836,9 ± 2,1 ^{Aa}	750,9 ± 30,4 ^{Ba}	842,4 ± 24,0 ^{Aab}	821,9 ± 10,6 ^{ABab / AB}	775,4 ± 15,6 ^{Bab}	858,4 ± 19,8 ^{Abc}	861,9 ± 26,2 ^{Aab}	756,4 ± 11,3 ^{Bb}
MO5	708,9 ± 10,6 ^{Bb}	869,4 ± 32,5 ^{Aa}	754,4 ± 18,4 ^{Ba}	888,9 ± 3,5 ^{Aab}	863,9 ± 7,8 ^{Aa / AB}	758,4 ± 7,1 ^{Cab}	899,9 ± 16,3 ^{Ab}	778,9 ± 53,0 ^{BCab}	817,9 ± 6,4 ^{ABCa}
MF3	819,9 ± 9,2 ^{Aa}	797,4 ± 33,9 ^{Aa}	772,4 ± 4,2 ^{Aa}	750,4 ± 19,8 ^{Ac}	798,4 ± 50,9 ^{Aab / A}	819,4 ± 45,3 ^{Aab}	838,4 ± 9,9 ^{Ac}	751,4 ± 25,5 ^{Aab}	754,9 ± 3,5 ^{Ab}
MF9	883,4 ± 17,0 ^{Aa}	795,9 ± 0,7 ^{Ba}	766,9 ± 21,9 ^{BCa}	702,4 ± 12,7 ^{Ccd}	713,9 ± 24,7 ^{Cb / A}	722,4 ± 26,9 ^{Ab}	728,9 ± 3,5 ^{Ad}	721,4 ± 14,1 ^{Ab}	774,9 ± 33,2 ^{Aab}
MF15	891,9 ± 50,2 ^{Aa}	852,4 ± 38,2 ^{ABa}	733,9 ± 33,2 ^{BCa}	679,4 ± 17,0 ^{Ccd}	721,4 ± 28,3 ^{BCb / A}	731,9 ± 14,8 ^{Ab}	735,4 ± 8,5 ^{Ad}	785,4 ± 56,6 ^{Aab}	750,9 ± 9,2 ^{Ab}
CG	901,9 ± 41,7 ^{Aa}	785,4 ± 11,3 ^{Ba}	781,4 ± 5,7 ^{Ba}	904,4 ± 21,2 ^{Aa}	795,9 ± 38,9 ^{ABab / A}	821,4 ± 36,8 ^{Aab}	831,9 ± 17,7 ^{Ac}	787,4 ± 19,8 ^{Aab}	769,4 ± 5,7 ^{Aab}
C	909,9 ± 16,3 ^{Aa}	834,9 ± 37,5 ^{ABa}	776,9 ± 37,5 ^{Ba}	859,4 ± 2,8 ^{ABab}	882,9 ± 23,3 ^{ABa / AB}	861,9 ± 4,9 ^{Ba}	956,4 ± 7,1 ^{Aa}	890,4 ± 41,0 ^{ABa}	747,4 ± 5,7 ^{Cb}
Bagaços de mandioca adicionados na fervura									
CO1	683,4 ± 9,9 ^{Bc}	784,4 ± 38,2 ^{ABa}	791,4 ± 28,3 ^{ABa}	861,4 ± 8,5 ^{Aa}	838,9 ± 46,0 ^{Aab / A}	737,9 ± 38,9 ^{Ab}	801,9 ± 31,8 ^{Ac}	766,9 ± 14,8 ^{Ab}	781,9 ± 31,8 ^{Aa}
CO2	795,4 ± 22,6 ^{ABb}	835,9 ± 2,1 ^{Aa}	760,9 ± 31,8 ^{BCa}	712,9 ± 9,2 ^{Cb}	736,9 ± 3,5 ^{BCb / A}	752,4 ± 24,0 ^{Ab}	774,9 ± 24,7 ^{Ac}	753,4 ± 1,4 ^{Ab}	747,9 ± 9,2 ^{Aa}
CO5	788,9 ± 3,5 ^{ABb}	847,9 ± 29,0 ^{Aa}	741,9 ± 31,8 ^{ABa}	719,9 ± 12,0 ^{Bb}	786,9 ± 41,7 ^{ABab / A}	775,9 ± 21,9 ^{Aab}	830,9 ± 9,2 ^{Abc}	800,9 ± 38,9 ^{Ab}	719,4 ± 15,6 ^{Aa}
CF3	911,4 ± 22,6 ^{Aa}	788,9 ± 2,1 ^{BCa}	820,4 ± 18,4 ^{Ba}	707,9 ± 4,9 ^{Db}	721,4 ± 24,0 ^{CDb / B}	823,4 ± 25,5 ^{Aab}	821,4 ± 18,4 ^{Abc}	813,4 ± 12,7 ^{Aab}	769,4 ± 24,0 ^{ABa}
CF9	969,9 ± 2,1 ^{Aa}	828,9 ± 19,1 ^{Ba}	754,4 ± 35,4 ^{BCa}	687,9 ± 6,4 ^{Cb}	732,4 ± 24,0 ^{Cb / B}	736,4 ± 18,4 ^{Bb}	880,4 ± 1,4 ^{Ab}	755,4 ± 4,2 ^{Bb}	769,4 ± 2,8 ^{Ba}
CF15	936,4 ± 1,4 ^{Aa}	860,4 ± 24,0 ^{Ba}	762,9 ± 23,3 ^{Ca}	700,9 ± 14,8 ^{Cb}	726,4 ± 1,4 ^{Cb / C}	743,9 ± 17,7 ^{BCb}	812,4 ± 7,1 ^{Abc}	783,4 ± 2,8 ^{ABb}	728,4 ± 15,6 ^{Ca}
CG	901,9 ± 41,7 ^{Aa}	785,4 ± 11,3 ^{Ba}	781,4 ± 5,7 ^{Ba}	904,4 ± 21,2 ^{Aa}	795,9 ± 38,9 ^{ABab / A}	821,4 ± 36,8 ^{Aab}	831,9 ± 17,7 ^{Abc}	787,4 ± 19,8 ^{Ab}	769,4 ± 5,7 ^{Aa}
C	909,9 ± 16,3 ^{Aa}	834,9 ± 37,5 ^{ABa}	776,9 ± 37,5 ^{Ba}	859,4 ± 2,8 ^{ABa}	882,9 ± 23,3 ^{ABa / AB}	861,9 ± 4,9 ^{Ba}	956,4 ± 7,1 ^{Aa}	890,4 ± 41,0 ^{ABa}	747,4 ± 5,7 ^{Ca}

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

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

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

Anexo III.2. Avaliação do teor de proteínas totais durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Tratamentos	Teor de Proteínas totais (mg de BSA.L ⁻¹)								
	Mosto quente	Mosto frio	Fermentação	Maturação	Envase / Início Shelf-life (Tzero)	Shelf-life 24 horas a 60 °C	Shelf-life 48 horas a 60 °C	Shelf-life 72 horas a 60 °C	Shelf-life 96 horas a 60 °C
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	10,50 ± 0,6 ^{Aab}	8,73 ± 0,3 ^{ABb}	6,88 ± 0,2 ^{Bb}	7,50 ± 0,6 ^{Bab}	3,78 ± 0,9 ^{Cb / B}	5,11 ± 0,2 ^{Bbcd}	3,69 ± 0,4 ^{Bc}	7,10 ± 0,1 ^{Aa}	5,28 ± 0,2 ^{ABb}
MO2	10,02 ± 0,50 ^{Ab}	9,44 ± 1,1 ^{ABb}	7,14 ± 0,2 ^{BCb}	8,78 ± 0,5 ^{ABa}	5,02 ± 0,1 ^{Cb / C}	5,73 ± 0,2 ^{Bb}	4,80 ± 0,2 ^{Cbc}	7,32 ± 0,2 ^{Aa}	6,04 ± 0,1 ^{Bb}
MO5	11,04 ± 0,4 ^{Aab}	8,96 ± 0,7 ^{ABb}	7,19 ± 0,5 ^{BCb}	8,47 ± 0,7 ^{Ba}	5,02 ± 0,2 ^{Cb / B}	5,64 ± 0,2 ^{ABbc}	5,68 ± 0,4 ^{ABb}	6,43 ± 0,3 ^{Aa}	6,04 ± 0,2 ^{ABb}
MF3	10,64 ± 0,5 ^{Aab}	9,27 ± 0,4 ^{ABb}	7,50 ± 0,7 ^{BCb}	5,28 ± 0,9 ^{Cbc}	5,46 ± 0,1 ^{Cb / A}	5,64 ± 0,4 ^{Abc}	5,64 ± 0,6 ^{Ab}	6,74 ± 0,0 ^{Aa}	5,50 ± 0,2 ^{Ab}
MF9	12,45 ± 0,3 ^{Ba}	7,81 ± 0,7 ^{Cb}	15,11 ± 0,1 ^{Aa}	4,31 ± 0,8 ^{Dc}	4,35 ± 0,1 ^{Db / B}	4,31 ± 0,1 ^{Bd}	4,35 ± 0,1 ^{Bbc}	4,49 ± 0,1 ^{Bb}	5,77 ± 0,4 ^{Ab}
MF15	10,86 ± 0,2 ^{Bab}	8,82 ± 0,3 ^{Cb}	15,86 ± 0,4 ^{Aa}	4,40 ± 0,6 ^{Dc}	4,44 ± 0,8 ^{Db / B}	4,53 ± 0,4 ^{Bd}	5,06 ± 0,6 ^{ABbc}	7,01 ± 0,5 ^{Aa}	5,59 ± 0,1 ^{ABb}
CG	10,68 ± 0,9 ^{Cab}	21,04 ± 0,2 ^{Aa}	15,11 ± 0,1 ^{Ba}	8,29 ± 0,2 ^{Da}	4,84 ± 0,2 ^{Eb / B}	4,75 ± 0,1 ^{Bcd}	4,93 ± 0,2 ^{Bbc}	6,57 ± 0,4 ^{Aa}	5,11 ± 0,4 ^{Bb}
C	11,65 ± 0,8 ^{Cab}	20,15 ± 1,2 ^{Aa}	16,12 ± 0,5 ^{Ba}	9,04 ± 0,1 ^{CDa}	8,38 ± 0,3 ^{Da / A}	8,07 ± 0,1 ^{Aa}	7,81 ± 0,2 ^{Aa}	7,27 ± 0,6 ^{Aa}	7,98 ± 0,2 ^{Aa}
Bagaços de mandioca adicionados na fervura									
CO1	11,79 ± 0,2 ^{Aa}	8,12 ± 0,7 ^{Bb}	7,10 ± 0,5 ^{Bb}	8,73 ± 0,1 ^{Ba}	4,40 ± 0,7 ^{Cb / C}	5,55 ± 0,4 ^{BCb}	5,19 ± 0,1 ^{BCb}	7,10 ± 0,1 ^{Aa}	6,26 ± 0,2 ^{ABbc}
CO2	12,14 ± 0,6 ^{Aa}	8,91 ± 0,7 ^{Bb}	7,14 ± 0,3 ^{Bb}	4,62 ± 0,4 ^{Cb}	4,27 ± 0,4 ^{Cb / C}	4,75 ± 0,4 ^{BCb}	5,19 ± 0,2 ^{BCb}	6,70 ± 0,3 ^{Aa}	5,77 ± 0,2 ^{ABbc}
CO5	10,50 ± 0,1 ^{Aa}	9,13 ± 0,1 ^{Bb}	5,99 ± 0,1 ^{Cb}	4,66 ± 0,6 ^{Db}	5,06 ± 0,1 ^{CDb / AB}	5,55 ± 0,1 ^{ABb}	4,88 ± 0,7 ^{Bb}	6,57 ± 0,1 ^{Aa}	5,59 ± 0,4 ^{ABbc}
CF3	12,14 ± 0,4 ^{ABa}	9,18 ± 1,9 ^{Bb}	15,95 ± 0,2 ^{Aa}	4,58 ± 0,8 ^{Cb}	4,93 ± 0,8 ^{Cb / B}	5,50 ± 0,4 ^{Bb}	5,28 ± 0,2 ^{Bb}	7,76 ± 0,2 ^{Aa}	5,99 ± 0,4 ^{ABbc}
CF9	11,30 ± 0,7 ^{Ba}	9,22 ± 0,5 ^{Bb}	16,21 ± 0,6 ^{Aa}	4,40 ± 0,7 ^{Cb}	4,88 ± 0,8 ^{Cb / B}	5,11 ± 0,6 ^{Bb}	6,04 ± 0,1 ^{ABb}	7,27 ± 0,0 ^{Aa}	6,74 ± 0,6 ^{ABab}
CF15	12,67 ± 0,6 ^{Ca}	21,17 ± 0,9 ^{Aa}	15,55 ± 0,3 ^{Ba}	4,97 ± 0,4 ^{Db}	4,88 ± 0,6 ^{Db / B}	4,84 ± 0,6 ^{Bb}	5,19 ± 0,4 ^{ABb}	6,92 ± 0,5 ^{Aa}	6,30 ± 0,0 ^{ABbc}
CG	10,68 ± 0,9 ^{Ca}	21,04 ± 0,2 ^{Aa}	15,11 ± 0,1 ^{Ba}	8,29 ± 0,2 ^{Da}	4,84 ± 0,2 ^{Eb / B}	4,75 ± 0,1 ^{Bb}	4,93 ± 0,2 ^{Bb}	6,57 ± 0,4 ^{Aa}	5,11 ± 0,4 ^{Bc}
C	11,65 ± 0,8 ^{Ca}	20,15 ± 1,2 ^{Aa}	16,12 ± 0,5 ^{Ba}	9,04 ± 0,1 ^{CDa}	8,38 ± 0,3 ^{Da / A}	8,07 ± 0,1 ^{Aa}	7,81 ± 0,2 ^{Aa}	7,27 ± 0,6 ^{Aa}	7,98 ± 0,2 ^{Aa}

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

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

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

Anexo III.3. Efeito dos agentes clarificantes na absorbância (600nm) da cerveja artesanal.

Tratamentos	Absorbância (600nm)								
	Mosto quente	Mosto frio	Fermentação	Maturação	Envase / Início Shelf-life (Tzero)	Shelf-life 24 horas a 60 °C	Shelf-life 48 horas a 60 °C	Shelf-life 72 horas a 60 °C	Shelf-life 96 horas a 60 °C
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	0,404 ± 0,003 ^{Ab}	0,209 ± 0,002 ^{Bcd}	0,200 ± 0,006 ^{Be}	0,148 ± 0,001 ^{Cc}	0,129 ± 0,003 ^{Db / D}	0,198 ± 0,004 ^{Cb}	0,214 ± 0,001 ^{Bc}	0,261 ± 0,003 ^{Ac}	0,264 ± 0,005 ^{Ab}
MO2	0,395 ± 0,001 ^{Ab}	0,202 ± 0,001 ^{Cd}	0,256 ± 0,007 ^{Bd}	0,154 ± 0,003 ^{Dc}	0,123 ± 0,003 ^{Eb / E}	0,197 ± 0,004 ^{Db}	0,219 ± 0,002 ^{Cc}	0,305 ± 0,003 ^{Aa}	0,287 ± 0,004 ^{Ba}
MO5	0,399 ± 0,004 ^{Ab}	0,208 ± 0,002 ^{Ccd}	0,300 ± 0,003 ^{Bc}	0,164 ± 0,002 ^{Db}	0,128 ± 0,004 ^{Eb / D}	0,180 ± 0,004 ^{Cc}	0,243 ± 0,003 ^{Bb}	0,258 ± 0,001 ^{Ac}	0,234 ± 0,002 ^{Bc}
MF3	0,419 ± 0,001 ^{Aa}	0,215 ± 0,001 ^{Cc}	0,356 ± 0,008 ^{Bb}	0,118 ± 0,001 ^{Dd}	0,124 ± 0,003 ^{Db / D}	0,203 ± 0,004 ^{Cb}	0,216 ± 0,002 ^{Bc}	0,261 ± 0,003 ^{Ac}	0,194 ± 0,001 ^{Ce}
MF9	0,377 ± 0,001 ^{Bc}	0,226 ± 0,001 ^{Cb}	0,474 ± 0,010 ^{Aa}	0,114 ± 0,001 ^{Dd}	0,103 ± 0,004 ^{Dc / C}	0,175 ± 0,004 ^{Bcd}	0,184 ± 0,002 ^{Bd}	0,178 ± 0,004 ^{Be}	0,205 ± 0,004 ^{Ade}
MF15	0,428 ± 0,004 ^{Aa}	0,224 ± 0,001 ^{Cb}	0,386 ± 0,013 ^{Bb}	0,119 ± 0,001 ^{Dd}	0,101 ± 0,004 ^{Dc / D}	0,166 ± 0,001 ^{Cd}	0,182 ± 0,003 ^{Bd}	0,220 ± 0,002 ^{Ad}	0,212 ± 0,003 ^{Ad}
CG	0,353 ± 0,001 ^{Bd}	0,145 ± 0,002 ^{Ce}	0,376 ± 0,004 ^{Ab}	0,120 ± 0,002 ^{Dd}	0,123 ± 0,004 ^{Db / D}	0,179 ± 0,002 ^{BCcd}	0,187 ± 0,004 ^{Bd}	0,223 ± 0,002 ^{Ad}	0,172 ± 0,004 ^{Cf}
C	0,342 ± 0,001 ^{Be}	0,246 ± 0,003 ^{Da}	0,491 ± 0,006 ^{Aa}	0,269 ± 0,001 ^{Ca}	0,246 ± 0,002 ^{Da / B}	0,232 ± 0,004 ^{Ca}	0,255 ± 0,004 ^{Ba}	0,285 ± 0,003 ^{Ab}	0,295 ± 0,004 ^{Aa}
Bagaços de mandioca adicionados na fervura									
CO1	0,387 ± 0,004 ^{Bc}	0,218 ± 0,003 ^{Cb}	0,481 ± 0,011 ^{Ab}	0,173 ± 0,002 ^{Db}	0,113 ± 0,004 ^{Ebc / E}	0,193 ± 0,004 ^{Db}	0,212 ± 0,003 ^{Cb}	0,251 ± 0,002 ^{Bb}	0,272 ± 0,003 ^{Ab}
CO2	0,418 ± 0,004 ^{Ab}	0,207 ± 0,003 ^{Bc}	0,424 ± 0,001 ^{Ac}	0,119 ± 0,001 ^{Ccd}	0,104 ± 0,003 ^{Dc / D}	0,169 ± 0,001 ^{Cd}	0,184 ± 0,002 ^{Bcd}	0,227 ± 0,004 ^{Ac}	0,225 ± 0,003 ^{Ade}
CO5	0,322 ± 0,003 ^{Bf}	0,168 ± 0,001 ^{Ce}	0,372 ± 0,007 ^{Ad}	0,109 ± 0,001 ^{De}	0,112 ± 0,004 ^{Dbc / C}	0,185 ± 0,004 ^{Bbc}	0,173 ± 0,003 ^{Bd}	0,226 ± 0,003 ^{Ac}	0,221 ± 0,002 ^{Ade}
CF3	0,413 ± 0,002 ^{Ab}	0,208 ± 0,001 ^{Cc}	0,266 ± 0,001 ^{Be}	0,114 ± 0,001 ^{Dcde}	0,118 ± 0,004 ^{Db / C}	0,193 ± 0,004 ^{Bb}	0,204 ± 0,002 ^{Bb}	0,252 ± 0,004 ^{Ab}	0,243 ± 0,004 ^{Ac}
CF9	0,438 ± 0,003 ^{Aa}	0,192 ± 0,002 ^{Cd}	0,365 ± 0,004 ^{Bd}	0,115 ± 0,002 ^{Dcde}	0,114 ± 0,004 ^{Dbc / D}	0,175 ± 0,004 ^{Ccd}	0,189 ± 0,002 ^{Bc}	0,231 ± 0,001 ^{Ac}	0,232 ± 0,003 ^{Accd}
CF15	0,429 ± 0,001 ^{Ba}	0,219 ± 0,001 ^{Cb}	0,577 ± 0,011 ^{Aa}	0,112 ± 0,001 ^{Dde}	0,103 ± 0,004 ^{Dc / C}	0,173 ± 0,004 ^{Bcd}	0,179 ± 0,001 ^{Bcd}	0,222 ± 0,003 ^{Ac}	0,214 ± 0,002 ^{Ae}
CG	0,353 ± 0,001 ^{Bd}	0,145 ± 0,002 ^{Cf}	0,376 ± 0,004 ^{Ad}	0,120 ± 0,002 ^{Dc}	0,123 ± 0,004 ^{Db / D}	0,179 ± 0,002 ^{BCcd}	0,187 ± 0,004 ^{Bc}	0,223 ± 0,002 ^{Ac}	0,172 ± 0,004 ^{Cf}
C	0,342 ± 0,001 ^{Be}	0,246 ± 0,003 ^{Da}	0,491 ± 0,006 ^{Ab}	0,269 ± 0,001 ^{Ca}	0,246 ± 0,002 ^{Da / B}	0,232 ± 0,004 ^{Ca}	0,255 ± 0,004 ^{Ba}	0,285 ± 0,003 ^{Aa}	0,295 ± 0,004 ^{Aa}

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

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

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

Anexo III.4. Avaliação da Turbidez durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Tratamentos	Turbidez (NTU)								
	Mosto quente	Mosto frio	Fermentação	Maturação	Envase / Início Shelf-life (Tzero)	Shelf-life 24 horas a 60 °C	Shelf-life 48 horas a 60 °C	Shelf-life 72 horas a 60 °C	Shelf-life 96 horas a 60 °C
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	115,5 ± 2,1 ^{Aa}	63,2 ± 0,6 ^{Bbc}	50,3 ± 2,3 ^{Ce}	28,4 ± 0,3 ^{Dd}	23,2 ± 0,1 ^{Db / D}	24,7 ± 0,2 ^{Dcd}	31,6 ± 1,1 ^{Cc}	44,5 ± 0,6 ^{Ac}	38,4 ± 1,3 ^{Bb}
MO2	111,0 ± 1,4 ^{Aa}	72,1 ± 0,6 ^{Ba}	71,5 ± 0,1 ^{Bd}	33,5 ± 0,4 ^{Cc}	22,9 ± 0,3 ^{Db / E}	25,2 ± 0,6 ^{Dc}	29,8 ± 0,6 ^{Cc}	63,4 ± 0,1 ^{Aa}	52,1 ± 0,4 ^{Ba}
MO5	115,0 ± 1,4 ^{Aa}	63,4 ± 1,0 ^{Cbc}	93,4 ± 2,0 ^{Bc}	46,8 ± 2,3 ^{Db}	23,9 ± 0,4 ^{Eb / C}	24,0 ± 0,4 ^{Ccd}	39,4 ± 0,6 ^{Ab}	42,8 ± 0,1 ^{Ac}	31,0 ± 2,0 ^{Bc}
MF3	113,0 ± 1,4 ^{Aa}	65,0 ± 1,4 ^{Cb}	108,0 ± 1,4 ^{Bb}	14,9 ± 0,6 ^{Ef}	23,2 ± 0,1 ^{Db / D}	31,1 ± 1,2 ^{Cb}	37,8 ± 0,5 ^{Bb}	53,3 ± 0,1 ^{Ab}	12,5 ± 0,1 ^{Ef}
MF9	100,5 ± 0,7 ^{Bb}	70,2 ± 1,3 ^{Ca}	137,0 ± 1,4 ^{Aa}	10,6 ± 0,7 ^{Dg}	10,2 ± 0,2 ^{Dc / B}	10,1 ± 0,1 ^{Be}	10,0 ± 0,0 ^{Bf}	10,1 ± 0,1 ^{Be}	16,4 ± 0,1 ^{Ae}
MF15	100,5 ± 0,7 ^{Ab}	61,1 ± 0,3 ^{Bc}	100,5 ± 0,7 ^{Abc}	10,8 ± 0,4 ^{Cg}	10,2 ± 0,2 ^{Cc / C}	10,1 ± 0,1 ^{Ce}	14,2 ± 0,2 ^{Be}	21,2 ± 1,4 ^{Ad}	23,3 ± 0,1 ^{Ad}
CG	100,5 ± 0,7 ^{Ab}	10,2 ± 0,3 ^{De}	96,4 ± 0,6 ^{Bc}	22,0 ± 0,4 ^{Ce}	23,4 ± 0,4 ^{Cb / A}	22,8 ± 0,1 ^{Ad}	22,9 ± 0,6 ^{Ad}	22,9 ± 0,3 ^{Ad}	13,2 ± 0,1 ^{Bef}
C	100,5 ± 0,7 ^{Bb}	19,1 ± 0,6 ^{Ed}	143,0 ± 4,2 ^{Aa}	65,0 ± 0,5 ^{Ca}	32,7 ± 0,3 ^{Da / D}	54,6 ± 0,1 ^{Aa}	47,3 ± 0,3 ^{Ca}	53,2 ± 0,3 ^{Bb}	22,9 ± 0,1 ^{Ed}
Bagaços de mandioca adicionados na maturação									
CO1	100,5 ± 0,7 ^{Ba}	61,9 ± 0,2 ^{Ca}	135,5 ± 0,7 ^{Ab}	45,7 ± 0,9 ^{Db}	16,1 ± 0,2 ^{Ed / D}	23,1 ± 0,4 ^{Cc}	23,0 ± 0,1 ^{Cc}	24,3 ± 0,1 ^{Bc}	45,6 ± 0,2 ^{Aa}
CO2	117,0 ± 2,8 ^{Ba}	61,1 ± 0,3 ^{Ca}	132,5 ± 0,7 ^{Ab}	11,8 ± 0,5 ^{Dde}	10,2 ± 0,2 ^{Df / D}	13,5 ± 0,4 ^{Ce}	14,6 ± 0,6 ^{Cde}	19,5 ± 0,7 ^{Be}	24,7 ± 0,1 ^{Ad}
CO5	100,5 ± 0,7 ^{Bb}	25,2 ± 1,0 ^{Cd}	121,0 ± 1,4 ^{Ac}	11,8 ± 0,4 ^{Ede}	19,2 ± 0,1 ^{Dc / C}	23,0 ± 0,1 ^{ABc}	21,7 ± 0,8 ^{Bc}	23,9 ± 0,1 ^{Ac}	23,7 ± 0,1 ^{Ade}
CF3	100,5 ± 0,7 ^{Ab}	42,0 ± 0,4 ^{Cc}	68,5 ± 0,5 ^{Be}	11,8 ± 0,4 ^{Ede}	14,6 ± 0,1 ^{De / E}	24,0 ± 0,1 ^{Db}	26,9 ± 1,1 ^{Cb}	40,2 ± 0,1 ^{Ab}	33,1 ± 0,1 ^{Bb}
CF9	116,0 ± 1,4 ^{Ba}	56,5 ± 0,2 ^{Cb}	122,5 ± 0,7 ^{Ac}	10,5 ± 0,6 ^{Ee}	14,6 ± 0,1 ^{De / D}	17,5 ± 0,1 ^{Cd}	18,1 ± 0,5 ^{Cd}	23,7 ± 0,1 ^{Bcd}	28,8 ± 1,1 ^{Ac}
CF15	116,0 ± 1,4 ^{Ba}	56,5 ± 0,4 ^{Cb}	147,0 ± 1,4 ^{Aa}	13,9 ± 0,4 ^{Dd}	10,2 ± 0,2 ^{Df / D}	13,7 ± 0,1 ^{BCfe}	11,4 ± 1,9 ^{CDe}	16,4 ± 0,1 ^{Bf}	22,4 ± 0,1 ^{Ae}
CG	100,5 ± 0,7 ^{Ab}	10,2 ± 0,3 ^{Df}	96,4 ± 0,6 ^{Bd}	22,0 ± 0,4 ^{Cc}	23,4 ± 0,4 ^{Cb / A}	22,8 ± 0,1 ^{Ac}	22,9 ± 0,6 ^{Ac}	22,9 ± 0,3 ^{Ad}	13,2 ± 0,1 ^{Bf}
C	100,5 ± 0,7 ^{Bb}	19,1 ± 0,6 ^{Ee}	143,0 ± 4,2 ^{Aa}	65,0 ± 0,5 ^{Ca}	32,7 ± 0,3 ^{Da / D}	54,6 ± 0,1 ^{Aa}	47,3 ± 0,3 ^{Ca}	53,2 ± 0,3 ^{Ba}	22,9 ± 0,1 ^{Ee}

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

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

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

Anexo III.5. Avaliação de sólidos solúveis totais durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Tratamentos	Sólidos solúveis totais (mg.L ⁻¹)								
	Mosto quente	Mosto frio	Fermentação	Maturação	Envase / Início Shelf-life (Tzero)	Shelf-life 24 horas a 60 °C	Shelf-life 48 horas a 60 °C	Shelf-life 72 horas a 60 °C	Shelf-life 96 horas a 60 °C
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	6956,7 ± 14,1 ^{Aa}	4553,3 ± 37,7 ^{Bb}	3903,3 ± 61,3 ^{Cg}	3303,3 ± 61,3 ^{Dc}	2816,7 ± 14,1 ^{Ebc / C}	2850,0 ± 61,3 ^{BCc}	2940,0 ± 47,1 ^{ABCe}	3086,7 ± 37,7 ^{Ad}	3006,7 ± 56,6 ^{ABd}
MO2	6793,3 ± 18,9 ^{Ac}	4716,7 ± 42,4 ^{Ba}	4693,3 ± 37,7 ^{Bf}	2443,3 ± 14,1 ^{Cf}	2903,3 ± 61,3 ^{Dbc / D}	2976,7 ± 42,4 ^{Dc}	3203,3 ± 23,6 ^{Cd}	4420,0 ± 56,6 ^{Aa}	3826,7 ± 56,6 ^{Ba}
MO5	7010,0 ± 4,7 ^{Aa}	4516,7 ± 14,1 ^{Cb}	6016,7 ± 61,3 ^{Be}	3920,0 ± 37,7 ^{Db}	2793,3 ± 66,0 ^{Ec / C}	2926,7 ± 28,3 ^{Cc}	3526,7 ± 37,7 ^{Abc}	3340,0 ± 75,4 ^{ABc}	3170,0 ± 14,1 ^{Bc}
MF3	6883,3 ± 23,6 ^{Ab}	4620,0 ± 47,1 ^{Bab}	6990,0 ± 23,6 ^{Ac}	2610,0 ± 23,6 ^{De}	2823,3 ± 33,0 ^{Cbc / C}	3290,0 ± 61,3 ^{Bb}	3476,7 ± 70,7 ^{Bc}	4036,7 ± 80,1 ^{Ab}	2390,0 ± 33,0 ^{Df}
MF9	6296,7 ± 14,1 ^{Bd}	4703,3 ± 42,4 ^{Ca}	7413,3 ± 9,4 ^{Ab}	2583,3 ± 4,7 ^{Def}	2006,7 ± 37,7 ^{Ed / B}	1956,7 ± 23,6 ^{Bd}	2263,3 ± 14,1 ^{Af}	2280,0 ± 37,7 ^{Ae}	2336,7 ± 42,4 ^{Af}
MF15	6073,3 ± 9,4 ^{Bf}	4550,0 ± 42,4 ^{Cb}	6283,3 ± 70,7 ^{Ad}	2486,7 ± 56,6 ^{Def}	1993,3 ± 56,6 ^{Ed / C}	2010,0 ± 23,6 ^{Cd}	3706,7 ± 56,6 ^{Ab}	3523,3 ± 42,4 ^{Bc}	3570,0 ± 23,6 ^{ABb}
CG	6140,0 ± 9,4 ^{Ae}	2333,3 ± 18,9 ^{Cd}	6036,7 ± 33,0 ^{Ae}	3080,0 ± 47,1 ^{Bd}	2993,3 ± 56,6 ^{Bab / C}	3303,3 ± 51,9 ^{Bb}	3590,0 ± 70,7 ^{Abc}	3453,3 ± 66,0 ^{ABc}	2716,7 ± 23,6 ^{De}
C	6150,0 ± 23,6 ^{Be}	2683,3 ± 33,0 ^{Ec}	7896,7 ± 61,3 ^{Aa}	4533,3 ± 9,4 ^{Ca}	3123,3 ± 4,7 ^{Da / C}	4066,7 ± 66,0 ^{Ba}	4536,7 ± 61,3 ^{Aa}	4416,7 ± 23,6 ^{Aa}	3290,0 ± 14,1 ^{Cc}
Bagaços de mandioca adicionados na maturação									
CO1	6310,0 ± 33,0 ^{Bc}	4606,7 ± 28,3 ^{Ca}	7413,3 ± 66,0 ^{Ab}	3713,3 ± 56,6 ^{Db}	2296,7 ± 23,6 ^{Ec / B}	2883,3 ± 23,6 ^{Ac}	2996,7 ± 14,1 ^{Ad}	3006,7 ± 56,6 ^{Ae}	3006,7 ± 56,6 ^{Ac}
CO2	6933,3 ± 37,7 ^{Ba}	4616,7 ± 14,1 ^{Ca}	7296,7 ± 14,1 ^{Ab}	2466,7 ± 37,7 ^{Def}	1966,7 ± 37,7 ^{Ee / D}	2126,7 ± 18,9 ^{Cd}	2210,0 ± 14,1 ^{Bf}	2783,3 ± 4,7 ^{Af}	2783,3 ± 4,7 ^{Ade}
CO5	6296,7 ± 42,4 ^{Bc}	2813,3 ± 28,3 ^{Cd}	7015,3 ± 50,0 ^{Ac}	2516,7 ± 33,0 ^{De}	2756,7 ± 14,1 ^{Cb / C}	3280,0 ± 37,7 ^{Ab}	3086,7 ± 56,6 ^{Bd}	3280,0 ± 37,7 ^{Ad}	3280,0 ± 37,7 ^{Ab}
CF3	6233,3 ± 18,9 ^{Ac}	3760,0 ± 28,3 ^{Cc}	4740,0 ± 9,4 ^{Be}	2600,0 ± 28,3 ^{De}	2360,0 ± 56,6 ^{Ec / C}	3346,7 ± 37,7 ^{Bb}	3290,0 ± 33,0 ^{Bc}	3846,7 ± 9,4 ^{Ab}	3846,7 ± 9,4 ^{Aa}
CF9	6683,3 ± 33,0 ^{Bb}	3996,7 ± 4,7 ^{Cb}	7123,3 ± 14,1 ^{Ac}	2346,7 ± 47,1 ^{Df}	2223,3 ± 61,3 ^{Dcd / B}	2230,0 ± 80,1 ^{Bd}	2693,3 ± 66,0 ^{Ae}	2843,3 ± 4,7 ^{Aef}	2843,3 ± 4,7 ^{Ad}
CF15	6770,0 ± 42,4 ^{Bb}	4040,0 ± 28,3 ^{Cb}	7973,3 ± 18,9 ^{Aa}	2806,7 ± 47,1 ^{Dd}	2083,3 ± 14,1 ^{Ede / B}	2126,7 ± 28,3 ^{Bd}	2286,7 ± 28,3 ^{Af}	2126,7 ± 28,3 ^{Bg}	2126,7 ± 28,3 ^{Bf}
CG	6140,0 ± 9,4 ^{Ad}	2333,3 ± 18,9 ^{Cf}	6036,7 ± 33,0 ^{Ad}	3080,0 ± 47,1 ^{Bc}	2993,3 ± 56,6 ^{Ba / C}	3303,3 ± 51,9 ^{Bb}	3590,0 ± 70,7 ^{Ab}	3453,3 ± 66,0 ^{ABc}	2716,7 ± 23,6 ^{De}
C	6150,0 ± 23,6 ^{Bd}	2683,3 ± 33,0 ^{Ee}	7896,7 ± 61,3 ^{Aa}	4533,3 ± 9,4 ^{Ca}	3123,3 ± 4,7 ^{Da / C}	4066,7 ± 66,0 ^{Ba}	4536,7 ± 61,3 ^{Aa}	4416,7 ± 23,6 ^{Aa}	3290,0 ± 14,1 ^{Cb}

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

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

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

Anexo III.6. Avaliação da massa seca durante o processo de fabricação de cerveja artesanal.

Tratamentos	Massa Seca (%)								
	Mosto quente	Mosto frio	Fermentação	Maturação	Envase / Início Shelf-life (Tzero)	Shelf-life 24 horas a 60 °C	Shelf-life 48 horas a 60 °C	Shelf-life 72 horas a 60 °C	Shelf-life 96 horas a 60 °C
Bagaços de malte adicionados na fervura									
MO1	10,14 ± 0,09 ^{Ac}	7,61 ± 0,22 ^{Ce}	8,09 ± 0,02 ^{Bd}	6,71 ± 0,08 ^{Dc}	6,12 ± 0,07 ^{Ed / C}	6,13 ± 0,09 ^{Cc}	6,26 ± 0,12 ^{BCc}	6,57 ± 0,12 ^{ABcd}	6,71 ± 0,08 ^{Ac}
MO2	9,96 ± 0,17 ^{Ac}	8,92 ± 0,20 ^{Bb}	7,39 ± 0,27 ^{Ce}	7,10 ± 0,08 ^{Cbc}	6,20 ± 0,04 ^{Dcd / B}	6,14 ± 0,01 ^{Bc}	6,13 ± 0,01 ^{Bcd}	6,61 ± 0,07 ^{Ac}	6,50 ± 0,06 ^{Ac}
MO5	10,34 ± 0,19 ^{Ac}	8,21 ± 0,01 ^{Bcd}	7,35 ± 0,12 ^{Ce}	7,36 ± 0,13 ^{Cb}	6,19 ± 0,01 ^{Dcd / A}	6,25 ± 0,01 ^{Abc}	6,41 ± 0,19 ^{Ac}	6,38 ± 0,16 ^{Ade}	6,40 ± 0,20 ^{Ac}
MF3	9,94 ± 0,01 ^{Ac}	9,02 ± 0,06 ^{Bb}	8,99 ± 0,07 ^{Bb}	5,50 ± 0,10 ^{Dd}	6,53 ± 0,13 ^{Cbc / C}	6,55 ± 0,06 ^{Cb}	6,87 ± 0,11 ^{BCb}	7,03 ± 0,03 ^{ABbc}	7,38 ± 0,17 ^{Ab}
MF9	10,86 ± 0,06 ^{Ab}	9,80 ± 0,05 ^{Ba}	9,82 ± 0,02 ^{Ba}	5,03 ± 0,27 ^{Dd}	5,57 ± 0,10 ^{Ce / ABC}	5,48 ± 0,08 ^{BCd}	5,76 ± 0,12 ^{ABd}	5,92 ± 0,13 ^{Ae}	5,18 ± 0,06 ^{Cd}
MF15	11,72 ± 0,03 ^{Aa}	9,74 ± 0,01 ^{Ba}	9,71 ± 0,06 ^{Ba}	5,19 ± 0,03 ^{Cd}	4,92 ± 0,04 ^{Df / B}	4,96 ± 0,04 ^{ABe}	4,94 ± 0,08 ^{Be}	5,16 ± 0,09 ^{ABf}	5,19 ± 0,03 ^{Ad}
CG	8,73 ± 0,09 ^{Ad}	8,70 ± 0,11 ^{Abc}	8,72 ± 0,08 ^{Abc}	8,12 ± 0,09 ^{Ba}	7,62 ± 0,06 ^{Ca / BC}	7,29 ± 0,13 ^{Ca}	7,60 ± 0,03 ^{BCa}	7,99 ± 0,18 ^{ABa}	8,19 ± 0,18 ^{Aa}
C	8,73 ± 0,19 ^{Ad}	7,95 ± 0,15 ^{BCde}	8,20 ± 0,23 ^{ABcd}	7,40 ± 0,11 ^{CDb}	6,76 ± 0,18 ^{Db / BC}	6,53 ± 0,11 ^{Cb}	6,92 ± 0,03 ^{ABCb}	7,15 ± 0,18 ^{ABb}	7,40 ± 0,11 ^{Ab}
Bagaços de mandioca adicionados na fervura									
CO1	9,09 ± 0,06 ^{Ac}	9,04 ± 0,01 ^{Ad}	8,50 ± 0,05 ^{Bde}	7,11 ± 0,05 ^{Cb}	6,40 ± 0,14 ^{Dbc / AB}	6,48 ± 0,03 ^{Ab}	6,16 ± 0,09 ^{Bcd}	6,20 ± 0,03 ^{ABc}	6,11 ± 0,05 ^{Bde}
CO2	10,57 ± 0,12 ^{Ab}	9,71 ± 0,06 ^{Bc}	9,72 ± 0,04 ^{Ba}	5,30 ± 0,33 ^{Ccd}	5,57 ± 0,02 ^{Cef / A}	5,72 ± 0,04 ^{Ac}	5,76 ± 0,03 ^{Ae}	5,81 ± 0,12 ^{Ac}	5,79 ± 0,09 ^{Ae}
CO5	11,79 ± 0,02 ^{Aa}	10,81 ± 0,14 ^{Ba}	7,86 ± 0,10 ^{Cf}	5,83 ± 0,03 ^{Dc}	6,04 ± 0,13 ^{Dcd / B}	5,87 ± 0,05 ^{Bc}	5,87 ± 0,07 ^{Bde}	6,23 ± 0,18 ^{Bc}	6,87 ± 0,04 ^{Ac}
CF3	10,65 ± 0,25 ^{Ab}	10,22 ± 0,22 ^{Ab}	9,39 ± 0,07 ^{Bab}	5,83 ± 0,10 ^{Cc}	5,74 ± 0,04 ^{Cde / D}	5,83 ± 0,11 ^{CDcd}	6,20 ± 0,08 ^{Cc}	7,03 ± 0,18 ^{Bb}	7,53 ± 0,04 ^{Ab}
CF9	11,79 ± 0,12 ^{Aa}	9,98 ± 0,03 ^{Bbc}	9,02 ± 0,02 ^{Cbc}	5,16 ± 0,24 ^{Dd}	5,14 ± 0,14 ^{Dfg / C}	5,47 ± 0,16 ^{BCd}	5,80 ± 0,19 ^{ABe}	6,07 ± 0,11 ^{ABc}	6,21 ± 0,16 ^{Ad}
CF15	11,77 ± 0,08 ^{Aa}	10,88 ± 0,03 ^{Ba}	7,91 ± 0,09 ^{Cf}	5,14 ± 0,16 ^{Dd}	5,06 ± 0,04 ^{Dg / C}	4,93 ± 0,03 ^{Ce}	5,08 ± 0,03 ^{Cf}	5,77 ± 0,05 ^{Bc}	6,77 ± 0,03 ^{Ac}
CG	8,73 ± 0,09 ^{Ac}	8,70 ± 0,11 ^{Ad}	8,72 ± 0,08 ^{Ac}	8,12 ± 0,09 ^{Ba}	7,62 ± 0,06 ^{Ca / BC}	7,29 ± 0,13 ^{Ca}	7,60 ± 0,03 ^{BCa}	7,99 ± 0,18 ^{ABa}	8,19 ± 0,18 ^{Aa}
C	8,73 ± 0,19 ^{Ac}	7,95 ± 0,15 ^{BCe}	8,20 ± 0,23 ^{ABef}	7,40 ± 0,11 ^{CDb}	6,76 ± 0,18 ^{Db / BC}	6,53 ± 0,11 ^{Cb}	6,92 ± 0,03 ^{ABCb}	7,15 ± 0,18 ^{ABb}	7,40 ± 0,11 ^{Ab}

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

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

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