

INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CURSO DE BACHARELADO DE QUÍMICA INDUSTRIAL

**BIANCA CÔGO DE OLIVEIRA E GEOVANNA NEVES CHAVES**

**ANÁLISE DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO ALCALINA DE PROTEÍNAS DO  
BAGAÇO DE MALTE**

VILA VELHA

2024

BIANCA CÔGO DE OLIVEIRA E GEOVANNA NEVES CHAVES

**ANÁLISE DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO ALCALINA DE PROTEÍNAS DO  
BAGAÇO DE MALTE**

Monografia apresentada à Coordenadoria do Curso de Bacharelado em Química Industrial do Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha, como requisito parcial para a obtenção do título de graduação.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Gomes Rosa

VILA VELHA-ES

2024

## FICHA CATALOGRÁFICA

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

O48a Oliveira, Bianca Côgo de

Análise do processo de extração alcalina de proteínas do bagaço de malte. / Bianca Côgo de Oliveira, Geovanna Neves Chaves. Vila Velha, 2024.

51 f. : il. col., 30 cm.

Inclui bibliografia.

Orientador: Prof. Dr<sup>a</sup>.: Juliana Gomes Rosa.

TCC (Graduação) – Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Vila Velha, Coordenadoria do Curso de Química Industrial, 2024.

1. Malte. 2. Bagaço de malte. I. Chaves, Geovana Neves. II. Rosa, Juliana Gomes. III. Instituto Federal do Espírito Santo. IV. Título.

CDD 23 – 641.23

Valéria Rodrigues de Oliveira CRB6/ES-477



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CAMPUS VILA VELHA

### ANEXO III – ATA DE DEFESA DE TCC

Aos 22 dias do mês de abril do ano de 2024, a banca presidida pelo professor Juliana Gomes Roz e composta por Estela Cláudio Ferruti e Juliano Souza Ribeiro, reuniu-se para a defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "Análise do processo de extração alcalina de proteínas do bagaço de malte" apresentado por Bianca Côgo de Oliveira e Georjane <sup>Neves Chaves</sup> do Curso Superior de Química Industrial. Após a apresentação do trabalho e arguição, a banca examinadora deliberou concluindo pela **APROVAÇÃO** do Trabalho de Conclusão de Curso, desde que o(s) estudante(s) entreguem o Trabalho de Conclusão de Curso corrigido, conforme as considerações realizadas pela Banca Examinadora e sob supervisão do orientador, à Biblioteca Zilma Coelho Pinto do Ifes/Vila Velha, como requisito necessário para solicitação de colação de grau. A banca examinadora, ainda, atribuiu nota 90 ao trabalho.

Vila Velha-ES, 22 de abril de 2024.

*Após defesa do TCC, a ata e a ficha de avaliação deverão ser cadastrados pelo professor de TCC no Sistema Integrado de Patrimônio, Administração e Contratos do Ifes (Sipac) e assinado digitalmente pelo orientador, coorientador, estudantes envolvidos com o TCC e membros da banca examinadora.*

## **DECLARAÇÃO DO(A) AUTOR(A)**

Declaro, para fins de pesquisa acadêmica, didática e técnico-científica, que este Trabalho de Conclusão de Curso pode ser parcialmente utilizado, desde que se faça referência à fonte e à autora.

Vila Velha, 15 de abril de 2024.

**BIANCA CÔGO DE OLIVEIRA E GEOVANNA NEVES CHAVES**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos, primeiramente, à Deus por nos ter amparado e nos dado a força que precisávamos para passar por esse ciclo em nossas vidas.

Reconhecemos também o esforço mútuo que tivemos na elaboração do presente trabalho e o quanto pudemos trocar experiências e conhecimentos durante a nossa jornada acadêmica. Sem o apoio uma da outra, não teríamos alcançado o fim desse processo.

Eu, Geovanna, agradeço aos meus pais por terem investido nos meus estudos e acreditarem no meu potencial, me dando apoio financeiro, de tempo, e de carinho durante a minha graduação.

Ao meu marido Wesley Lube pela paciência, suporte e apoio emocional. Obrigada por me encorajar a superar os meus limites e por ser meu porto seguro. Seu amor e comprometimento com nossa relação foram um grande estímulo para minha dedicação ao trabalho.

Aos meus amigos Keven Andrade, Rebecca Coelho, Mariana Hermínio e Lucas Rodrigues, toda a minha gratidão por me ouvirem, me respeitarem e por proporcionarem um ambiente seguro para que eu crescesse e me desenvolvesse. Vocês foram essenciais para essa conquista.

Eu, Bianca, agradeço aos meus pais, Lúcia Côgo e Cláudio Inácio, por não terem medido esforços para que esse momento se realizasse. Graças aos seus objetivos e abdições eu pude ter um ensino de qualidade. Tudo o que sou é reflexo do que vocês são para mim. Obrigada por me incentivarem e acreditarem no meu potencial.

Agradeço a minha avó, Glória, por ser sinônimo de carinho e cuidado em minha vida. Seu amor incondicional e incentivo foram essenciais para que eu pudesse superar os desafios e chegar até aqui.

Agradeço ao Yan Fontes, meu namorado, por ter sido um parceiro leal, atencioso e gentil nos momentos de dificuldade. Por ter estado ao meu lado desde o dia da

matrícula até o momento de hoje. Sou grata pelo nosso relacionamento e parceria que construímos ao longo desses anos, você foi essencial para essa conquista.

Agradeço a Rose, minha sogra, por ter me amparado e orientado em momentos de dúvida, por me incentivar e vibrar as vitórias em minha vida.

Agradecemos aos nossos amigos de graduação, Vitória, Isis, Gabriel e Nathan, por terem compartilhado essa experiência conosco. Vivemos momentos de felicidades, angústias e vitórias juntos que ficarão marcados em nossa memória.

Agradecemos aos professores pelos ensinamentos, em especial, à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Rosa Gomes, por ter aceitado o convite de ser nossa orientadora e encarar os desafios desse trabalho ao nosso lado com maestria.

Por fim, agradecemos a nossa Instituição por nos proporcionar um ambiente de estudo e pesquisa de qualidade, o qual oportunizou todas as ferramentas necessárias para conclusão desse presente trabalho.

## RESUMO

A cerveja, uma bebida alcoólica de longa tradição, cuja história remonta milênios, é produzida e apreciada globalmente, originando-se da fermentação do malte, elemento crucial nesse processo. O malte é obtido por meio do processo de malteação, em que a cevada passa por uma ativação de enzimas controladas e secagem. Este procedimento impacta diretamente no desenvolvimento das características desejadas na produção cervejeira. Durante a produção da cerveja subprodutos de qualidade são gerados, como o bagaço de malte, que é frequentemente utilizado na alimentação animal ou então é descartado, sendo um fator contribuinte para a poluição ambiental se descartado de maneira inadequada. Contudo, o bagaço de malte possui uma composição rica, destacando-se pela presença de proteínas, o que o torna promissor para aplicações secundárias. Considerando isso, a exploração de alternativas para obter proteínas do bagaço de malte se torna uma atividade atrativa. Várias técnicas podem ser empregadas para essa finalidade, dentre elas encontra-se a extração alcalina, que tem seu destaque por ser uma alternativa menos custosa e prática. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo utilizar o bagaço de malte para extração de proteínas por meio da técnica de extração alcalina, buscando avaliar os efeitos dos parâmetros tempo, temperatura e pH no rendimento, visando a redução de custos, tempo e aumento de rendimento. Foi empregado um planejamento experimental para conduzir a extração alcalina, explorando as variáveis independentes: tempo de processo (30 a 60 minutos), pH (8 a 12) e temperatura (30 a 60 °C). No âmbito desse planejamento, as respostas avaliadas foram o rendimento de extração.

Palavras-chave: Extração alcalina. Malte. Bagaço de malte. Planejamento experimental. Otimização.

## ABSTRACT

Beer, an alcoholic drink with a long tradition, whose history goes back millennia, is produced and enjoyed globally, originating from the fermentation of malt, a crucial element in this process. Malt is obtained through the malting process, in which barley undergoes controlled enzyme activation and drying. This procedure directly impacts the development of the desired characteristics in beer production. During the production of beer, several quality by-products are generated, such as malt pomace, which is often used in animal feed or is discarded, being a contributing factor to environmental pollution if disposed of inappropriately. However, malt bagasse has a rich composition, highlighted by the presence of proteins, which makes it promising for several secondary applications. Considering this, exploring alternatives to obtain proteins from malt bagasse becomes an attractive activity. Various techniques can be used for this purpose, among them is alkaline extraction, which stands out for being a less costly and practical alternative. Therefore, this work aims to use malt bagasse to extract proteins using the alkaline extraction technique, seeking to evaluate the effects of time, temperature and pH parameters on yield, aiming to reduce costs, time and increase yield. . An experimental design was used to conduct alkaline extraction, exploring the independent variables: process time (30 to 60 minutes), pH (8 to 12) and temperature (30 to 60 °C). Within the scope of this planning, the responses evaluated were the extraction yield.

Keywords: Alkaline extraction. Malt. Malt pomace. Experimental planning. Optimization.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma da produção de cerveja, sendo as cascas e restos de grão, o que chamamos de bagaço de malte.....	18
Figura 2 - Malte moído .....	20
Figura 3 - Etapa de mosturação .....	20
Figura 4 - Bagaço de malte .....	23
Figura 5 - Representação das estruturas das proteínas.....	28
Figura 6 - Representação sistemática de um planejamento ligando os fatores (variáveis de entrada) as respostas (variáveis de saída) .....	32
Figura 7 - Fluxograma experimental da preparação da matéria prima .....	34
Figura 8 - Matéria prima seca, moída, peneirada e mistura das retenções das peneiras de 50 e 60 mesh .....	35
Figura 9 - Gráfico de Pareto representando em ordem de significância as variáveis analisadas.....	40
Figura 10 - Gráfico de superfície de resposta do rendimento de extração em função das variáveis pH e temperatura.....	41
Figura 11 - Gráfico de superfície de resposta do rendimento de extração em função das variáveis tempo e temperatura.....	42
Figura 12 - Gráfico de superfície de resposta do rendimento de extração em função das variáveis tempo e pH.....	43

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Composição química do bagaço de malte .....	25
Tabela 2 – Variáveis do planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> utilizado para realização da extração alcalina.....	36
Tabela 3 - Porcentagem do rendimento de proteína obtida.....	39

## SUMÁRIO

- 1 INTRODUÇÃO**
- 2 OBJETIVOS**
  - 2.1 OBJETIVOS GERAIS
  - 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS
- 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**
  - 3.1 INDÚSTRIA E PRODUÇÃO DE CERVEJA
  - 3.2 BAGAÇO DE MALTE
  - 3.3 APLICABILIDADES FUNCIONAIS DO BAGAÇO DE MALTE
    - 3.3.1 NUTRIÇÃO HUMANA
    - 3.3.2 SUPLEMENTAÇÃO ANIMAL
    - 3.3.3 CONSTRUÇÕES CIVIS
    - 3.3.4 INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO MICROBIANO
  - 3.4 PROTEÍNAS
  - 3.5 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS
    - 3.5.1 EXTRAÇÃO ALCALINA
    - 3.5.2 VANTAGENS DO ISOLADO DE PROTEÍNA
  - 3.6 PLANEJAMENTO FATORIAL
    - 3.6.1 PLANEJAMENTO FATORIAL 2<sup>3</sup>
- 4 MATERIAIS E MÉTODOS**
  - 4.1 MATÉRIA PRIMA
    - 4.1.2 PREPARO DA MATÉRIA PRIMA
  - 4.2 EXTRAÇÃO ALCALINA
  - 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA
- 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**
- 6 CONCLUSÃO**
- REFERÊNCIAS**

## 1 INTRODUÇÃO

A área de produção primária de alimentos, fibras e energia, aliada à agroindústria, configura-se como um dos setores mais importantes para a economia brasileira, desempenhando um papel fundamental tanto no abastecimento doméstico quanto nas exportações do país. Nesse contexto, essas operações geram subprodutos que, quando não devidamente utilizados, resultam em perdas para a indústria e acarretam riscos ambientais e sociais (SPADOTTO; RIBEIRO, 2006).

Uma das grandes indústrias do país, que tem crescido de forma exponencial nos últimos anos é a cervejeira. De acordo com dados do Anuário Brasileiro da Indústria da Cerveja, o crescimento do setor mostra números exponenciais e do início do século XX até os dias atuais o número de cervejarias já cresceu mais de 4000%. O número dos registros de produtos, nos últimos seis anos, aumentaram em mais de 400%. A balança comercial ultrapassou a casa dos US\$100 milhões e os dados de geração de emprego e arrecadação de impostos são significativos. 1 em cada 8 municípios brasileiros possuem pelo menos uma cervejaria registrada (CERVBRASIL, 2022).

Atualmente, o descarte dos resíduos gerados pelas indústrias brasileiras é feito em aterros. Uma vez que, de acordo com empresas de limpeza, é a opção “mais barata” e “mais rápida”. Porém, estudos em gestão de resíduos na cidade de São Paulo mostraram que, a utilização da matéria orgânica descartada, em outros processos, na maioria das vezes, é mais barato do que descartar, além de ser eficiente e não poluidor (SPADOTTO *et al.*, 2016).

O principal e mais abundante resíduo gerado pela indústria cervejeira é o bagaço do malte ou BSG (“*brewers spent grains*”, do inglês). A cada 1000 toneladas de cerveja produzida, 13% a 17% toneladas de resíduos sólidos são gerados na forma de bagaço de malte (AMORIELLO *et al.*, 2020). Como ilustração, considerando a produção estimada para o ano de 2017, foram gerados cerca de 2,82 milhões de toneladas desse resíduo no Brasil (MASSARDI *et al.*, 2020).

O bagaço de malte consiste da casca do grão de cevada obtida após o preparo do mosto cervejeiro (SANTIAGO, 2013). Nos últimos anos, o BSG tem ganhado cada vez mais a atenção das indústrias alimentícias, devido à sua composição química e nutricional, pois é uma rica fonte de fibras (representadas por lignina, celulose e hemicelulose, representando cerca de 70 % de sua composição), proteínas (cerca de 20 %) e aminoácidos essenciais, lipídios, minerais e vitaminas (AMORIELLO *et al.*, 2020).

A proteína do bagaço de malte tem recebido muita atenção, pois pode ser um material potencial para estabilização em emulsões aquosas óleo/água. Além disso, foi demonstrado que os peptídeos BSG possuem altas bioatividades *in vitro*, como atividade antioxidante, o que forneceu informações para a aplicação da proteína como ingrediente de origem natural em alimentos funcionais como, por exemplo, na produção de leite (LI *et al.*, 2020).

A extração alcalina seguida de precipitação isoelétrica (AE-IEP) é uma prática comum para produzir isolado de proteína. Em geral, as propriedades estruturais, funcionais e aromáticas da proteína extraída são influenciadas pelas condições sob as quais a matéria-prima é processada, por exemplo, temperatura, tempo, concentração, pH e força iônica (GAO *et al.*, 2020). Portanto, a análise do impacto desses parâmetros no rendimento da extração desempenha um papel crucial no avanço dos procedimentos industriais de remoção.

Diante das informações apresentadas, considerando o volume de resíduo gerado, que possui uma importância econômica e ecológica, e a vasta aplicabilidade, o objetivo do presente trabalho é estudar e otimizar o processo de extração alcalina das proteínas de bagaço de malte. Um planejamento experimental fatorial 2<sup>3</sup> foi empregado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o processo de extração alcalina de proteínas do bagaço do malte.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a extração de proteína do bagaço de malte por extração alcalina com NaOH 1M;
- Analisar como as variáveis temperatura, tempo e pH influenciam no rendimento do processo de extração alcalina;
- Avaliar os efeitos das variáveis;
- Otimizar a extração com o auxílio de um planejamento experimental 2<sup>3</sup>.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 INDÚSTRIA E PRODUÇÃO DE CERVEJA

A indústria cervejeira brasileira é uma das principais do mundo, sendo o Brasil o terceiro maior produtor de cerveja do mundo, ficando atrás da China e dos Estados Unidos em termos de produção em litros por ano (MAPA; SINDCERV, 2022).

Devido às particularidades inerentes à sua operação, as cervejarias exercem uma influência positiva em diversos setores econômicos tais como o agronegócio, transporte, energia, fabricação de veículos, alumínio, vidro entre outros.

Atualmente, mais de dois milhões de indivíduos encontram emprego direto ou indireto e contribuindo para uma geração de 2% do Produto Interno Bruto Nacional. A cadeia produtiva da cerveja gera mais de 27 bilhões em salários, tornando-se responsável por mais de R\$ 49,6 bilhões de tributos por ano, sendo um dos principais colaboradores para o crescimento do Brasil (MAPA; SINDCERV, 2022).

De acordo com o decreto nº 9.902 de 8 de julho de 2019, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas.

Cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro (BRASIL, art. 84, **caput**, inciso IV, da Constituição, 2019).

Os adjuntos referem-se a carboidratos não maltados com composição adequada e propriedades que complementam ou suplementam de maneira benéfica o malte de cevada. Entre os complementos mais frequentes estão o milho, o arroz e o trigo (REBELLO, 2009).

A categorização das cervejas pode ocorrer com base em diversos critérios, como origem geográfica, extrato original, cor, teor alcoólico, proporção de malte de cevada, tipo de fermentação, controle de processo e tratamento térmico. Apesar das

variações entre marcas dentro da mesma classificação, essas cervejas são essencialmente produzidas seguindo o mesmo processo de fabricação (D. JUNIOR; VIEIRA; FERREIRA, 2009).

O processamento da cerveja, apesar de variar entre os diferentes fabricantes, obedece a sete etapas essenciais: moagem, mostura, fervura, fermentação, maturação, filtração e envase. O procedimento completo da produção da cerveja está representado no fluxograma da Figura 1 a seguir.

Figura 1 - Fluxograma da produção da cerveja, sendo as cascas e restos de grãos, o que chamamos de bagaço de malte



Fonte: Autoria própria, 2024

O processo de malteação ou maltagem, é a primeira etapa realizada na produção cervejeira, ela consiste na transformação do grão in natura em malte por meio da conversão do amido em açúcares, como maltose e glicose. Essa etapa está diretamente ligada a qualidade da produção, uma vez que o aroma, sabor e a cor da cerveja dependem da qualidade do malte gerado (DRAGONE e SILVA, 2010; SAVIN e AGUINAGA, 2011).

O malte é o resultado do processo de maltagem. Essa etapa do processo cervejeiro é dividida em três etapas: maceração, germinação e secagem (MUSSATTO, 2006).

A cevada é um cereal abundante em amido e proteínas, composto por casca externa, endosperma, amiláceo e germe, atua como matéria-prima na elaboração da cerveja. Ao ser empregada no processo cervejeiro, a cevada selecionada é armazenada por 30 a 45 dias até atingir o seu máximo potencial germinativo. Após essa etapa, o cereal é submetido ao processo de maltagem com o intuito de expandir o conteúdo enzimático dos grãos (MUSSATTO, 2007).

Na fase de malteação, os grãos da cevada são colocados em tanques de água, esse processo é feito para alcançar níveis entre 42 a 48% de umidade e ativar o metabolismo da semente, induzindo ao processo de germinação. A germinação provoca transformações físico-químicas e fundamentais no grão, que estimulam as principais enzimas do malte (amilase, protease, glucanase, entre outras).

Após a germinação do grão, o mesmo, é submetido ao procedimento de secagem seco a uma temperatura entre 40 a 60°C com uma umidade de 4 a 5%, a fim de proteger a cevada contra contaminação bacteriana, além de desenvolver o sabor do malte, durante o armazenamento em silos, que dura entre 20 a 30 dias (SANTIAGO, 2013).

A moagem do malte consiste na separação da casca e do endosperma do grão, permitindo seu melhor contato com a água. Nesse processo, deseja-se que a casca permaneça inteira ou menos fragmentada o possível, evitando sabores relacionados ao amargo/adstringente (COELHO *et al.*, 2020). A Figura 2 traz a representação do malte moído nessa etapa de produção.

Figura 2 - Malte moído



Fonte: Escola Superior de Cerveja e Malte, 2021

A moagem do malte não deve ser muito fina a ponto de tornar lenta a filtragem do mosto e nem muito grossa, o que dificulta a hidrólise do amido (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

A mosturação compreende a mistura do malte moído com a água, e a adição de seu complemento, caso necessário. O objetivo é promover a hidratação do grão e posterior hidrólise do amido a açúcares. O pH e a temperatura são regulados para controlar a degradação do amido e das proteínas (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

Figura 3 - Etapa de mosturação



Fonte: Insumos para Cerveja, 2021

A filtração do mosto é uma etapa importante. 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 (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

A fervura é a etapa responsável pela esterilização do mosto filtrado, devido ao emprego de temperaturas próximas de 100 °C (COELHO *et al.*, 2020). Em alguns processos de fabricação de cerveja, o lúpulo é adicionado nesta etapa.

O lúpulo é o mais importante conservante do mosto. Existem lúpulos com características mais aromáticas e outros com características mais amargas (REBELLO, 2009). Por essa razão, muitas vezes é acrescentado quando a fervura está no meio ou mesmo no final, e outras vezes em parcelas durante o processamento. O motivo é que os óleos essenciais responsáveis pelo desenvolvimento do aroma são voláteis, podendo perder-se na fervura. Tudo irá depender do gosto do fabricante (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

Na fervura, também ocorrem reações que contribuem para a coloração da cerveja, e aroma da cerveja tais como as reações de Maillard. Essa reação ocorre quando há interação de grupos amina de aminoácidos, peptídios e proteínas com açúcar redutor (aldeído). Tal interação resulta na degradação de carboidratos gerando pigmentos escuros contendo nitrogênio em sua molécula, conhecidos como melanoidinas (FRANCISQUINI *et al.*, 2017; NESPOLO *et al.*, 2015).

Após o término da etapa de fervura, o mosto é resfriado até atingir a temperatura de trabalho da levedura escolhida, para o início da fermentação alcoólica (COELHO *et al.*, 2020).

A fermentação é realizada em tanques cilíndricos cônicos equipados com válvulas que permitem a saída do CO<sub>2</sub> produzido, mas impedindo a entrada de ar atmosférico, a fim de que não haja contaminação por contato. Essa etapa pode durar de 5 a 10 dias dependendo do estilo da cerveja, resultando em um líquido com densidade inferior à do mosto devido a presença de álcoois (COELHO *et al.*, 2020).

É nesta etapa que acontece a biotransformação do mosto doce à bebida que conhecemos como cerveja. A descrição tradicional do processo de fermentação em cervejarias é a conversão processada pela levedura (fermento) de glicose, em etanol e gás carbônico, sob condições anaeróbicas (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

Durante a fermentação do mosto também são formados outros compostos que podem conferir aromas e sabores agradáveis e desejáveis à cerveja. Entretanto, os denominados de *off flavours* (indesejáveis) podem ser formados por diversos fatores como as elevadas temperaturas, contaminação por microrganismos, ou até as características das leveduras utilizadas (COELHO *et al.*, 2020).

Por isso, após o período estabelecido de fermentação, faz-se um descarte de leveduras, e o mosto é, então, fervido para isomerizar o lúpulo, concentrar a cerveja e destruir microrganismos (REBELLO, 2009).

A maturação também consiste em um método eficaz de remoção de *off flavours*. Nele, a cerveja resultante da fermentação é transferida para um maturador, o qual é isento de impurezas. A cerveja pode ser mantida no maturador por 30 dias ou mais, dependendo do estilo de produção adotado (COELHO *et al.*, 2020). Nessa fase, modificações de aroma e sabor ocorrem na cerveja, além de alterações em seu sistema coloidal, proporcionando a clarificação por precipitação de proteínas, e sólidos solúveis. Antioxidantes são adicionados para prevenir a ação de oxigênio residual (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

A filtração tem como objetivo principal a eliminação das leveduras que ainda restam após a maturação. Em alguns casos, pode ser precedida da centrifugação, aumentando a eficiência do processo (COELHO *et al.*, 2020). Essa fase também inclui a clarificação e a carbonatação, onde a cerveja será submetida a pressão usando-se gás carbônico e clarificada por meio de filtros. O limite de células residuais de leveduras após a filtração deve ser menor que 10/100mL de cerveja (D. JUNIOR *et al.*, 2009).

Por fim, a cerveja é pasteurizada a fim de eliminar-se quaisquer contaminações (REBELLO, 2009). São realizadas análises de: álcool (°GL); extrato real (°Brix);

fermentabilidade real; extrato aparente (%); fermentabilidade aparente (%); pH; acidez total (%m/v); cor (EBC); amargor (UA); turbidez (EBC); espuma (s) e CO<sub>2</sub> (v/v). A validade da cerveja engarrafada é de 6 meses (REBELLO, 2009).

### 3.2 BAGAÇO DE MALTE

O resíduo conhecido como bagaço de malte surge como subproduto no decorrer da produção de cerveja, consistindo primariamente na casca da cevada após o estágio de preparação do mosto cervejeiro. O bagaço de malte, também conhecido como BSG (abreviação do inglês "*brewer's spent grain*"), representa cerca de 85% de todos os resíduos gerados na indústria cervejeira (REINOLD, 1997).

Figura 4 - Bagaço de malte



Fonte: Escola Superior de Cerveja e Malte, 2021

O BSG é considerado um subproduto valioso que tem despertado interesse em uma variedade de aplicações. Devido à sua composição rica em fibras, proteínas e nutrientes, o bagaço de malte possui potencial como fonte para alimentação animal, geração de biogás, processo de compostagem e até mesmo como ingrediente em produtos alimentícios (MUSSATTO *et al.*, 2010).

O principal destino desses resíduos tem sido na alimentação de bovinos, principalmente vacas em lactação, e, em menor escala, nos rebanhos destinados à engorda. Também existem registros de sua aplicação na dieta de ovinos, caprinos, suínos, equinos e aves. Contudo, apesar dos benefícios nutricionais, esse uso tem

apresentado desafios para os produtores rurais, relacionados à dificuldade de armazenamento adequado e ao elevado teor de umidade. A contaminação desse material por microrganismos e utilização de forma indiscriminada na dieta, tem causado enfermidades em bovinos, como intoxicação, acidose ruminal e botulismo (BRUST *et al.*, 2015).

De acordo com Aliyu e colaboradores (2011) diversos métodos têm sido propostos para estender o tempo de armazenamento do BSG, devido seu teor elevado de umidade. A elevada umidade do BSG (80 a 85%), combinada com polissacarídeos e proteínas, o torna particularmente propenso ao crescimento microbiano. Sendo o armazenamento um ponto necessário para o processamento subsequente do BSG, a deterioração devido à atividade microbiana é reconhecida como um potencial problema. Portanto, técnicas de processamento do bagaço de malte visando a diminuição da contaminação microbiológica devem ser avaliadas, como operações de secagem, que podem estender a vida útil e ampliar a gama de possibilidades da aplicação desse subproduto (BOURSCHEIDT *et al.*, 2011; SILVA, 2012).

Assim como pode ser observado na Tabela 1, o BSG é uma rica fonte de fibras (representadas por lignina, celulose e hemicelulose, representando cerca de 70% de sua composição), proteínas (cerca de 20%) e, principalmente, aminoácidos essenciais, lipídios, minerais e vitaminas. O BSG também é fonte de ácidos fenólicos; recentemente, essas moléculas têm sido utilizadas como alternativa aos aditivos sintéticos por serem seguras e possuírem atividades antimicrobianas (AMORIELLO *et al.*, 2020).

Essa alta quantidade de fibras e proteínas atribui ao BSG ótimas aplicações tanto em alimentos, quanto em produtos, como os cosméticos, por exemplo (LYNCH *et al.* 2016). Por essa razão, a importância de se propor formas economicamente viáveis para explorar a reutilização e a valorização do bagaço de malte (SANTOS, 2014).

Tabela 1 - Composição química do bagaço de malte

<b>Componente</b>	<b>Ferreira et al. 2020</b>	<b>Massardi et al. 2020</b>	<b>Kuiavski et al. 2020</b>	<b>Teixeira et al. 2018</b>	<b>Weege et al. 2017</b>
<b>Fibras</b>	12,65	15,99	5,13	27,6	17,6
<b>Proteína</b>	14,3	21,16	4,75	12,5	23,4
<b>Lipídios</b>	7,7	n.d	1,79	5,9	7,7
<b>Cinzas</b>	3,17	3,76	0,8	3,4	4,1

Fonte: A autoria Própria (2024). Todos os valores são expressos para 100g de material seco.

### 3.3 APLICABILIDADES FUNCIONAIS DO BAGAÇO DE MALTE

A composição química do bagaço de malte evidencia a possibilidade de sua aplicação em diversos processos industriais como matéria prima. Entre possíveis aplicações, encontra-se em grande escala o uso principal do bagaço de malte como fonte de nutrição humana e animal. Além disso, na literatura é possível encontrar sua exploração na construção civil, no crescimento microbiano e entre outras áreas.

#### 3.3.1 NUTRIÇÃO HUMANA

O crescimento exponencial da população está diretamente ligado à necessidade do aumento da demanda de proteínas. Esse fator estimula o desenvolvimento de estudos que contribuam com a maior obtenção da mesma. Dessa maneira, destaca-se o uso do bagaço de malte para tal finalidade por apresentar uma quantidade significativa de proteína em sua composição, podendo servir como base para suplementação humana.

Entretanto, economicamente ainda não se encontrou uma tecnologia viável em proporções comerciais de separação de proteínas. Uma vez que o processo de extração e eficiência da separação não são altos o suficiente, gerando obstáculos para sua aplicação em grande escala (HE et al., 2019).

### 3.3.2 SUPLEMENTAÇÃO ANIMAL

Segundo dados do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), tanto o consumo interno quanto as exportações têm impulsionado o aumento do consumo de carne bovina. Entretanto, é preocupante observar que as áreas de pastagens estão diminuindo anualmente, o que pode resultar em escassez de alimentação para o gado (GONÇALVES, 2009). E os ruminantes requerem uma fonte volumosa e nutritiva de alimentos para atender a sua necessidade adequada de dieta diária (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Com isso, é conhecido que o uso de resíduos proteicos na alimentação animal é um incremento da quantidade de proteína bruta, gerando energia e digestibilidade dos alimentos em ruminantes (MENEGETTI, 2008). De acordo com Cordeiro (2011), entre os resíduos industriais, o bagaço de malte tem ganhado destaque nesse âmbito, devido a sua grande produção anual e conseqüentemente a geração desse resíduo pelas indústrias cervejeiras.

### 3.3.3 CONSTRUÇÕES CIVIS

O bagaço de malte possui um grande potencial de exploração na construção civil. Sua reutilização foi analisada por pesquisadores do Instituto Politécnico de Tomar e Universidade de Coimbra para incorporação em uma pasta utilizada na confecção de tijolos cerâmicos, concluindo-se que uma implementação de 5% do bagaço de malte na pasta é favorável, resultando em resistência mecânica adequada e menor condutividade térmica, o que torna sua utilização viável (FERRAZ *et al.*, 2013).

### 3.3.4 INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO MICROBIANO

O bagaço de malte é utilizado na inoculação e crescimento de fungos e bactérias para diversos processos, incluindo a produção de enzimas, biomassas microbianas e outros. Além de ser economicamente acessível e amplamente disponível, esse substrato atende às exigências para exploração biotecnológica. Na área de pesquisa, cientistas da Universidade de Agricultura de Tóquio exploraram um

mecanismo microbiano para a fabricação de hidrogênio, resultando na capacidade de produzir bio hidrogênio. No estudo, 8 das 33 microfloras analisadas demonstraram não precisar de tratamentos adicionais para a produção do bio hidrogênio. Concluindo que o bagaço de malte é um produto viável e capaz de diminuir os custos de aplicação nesse campo de estudo (BIANCO *et al.*, 2020; BANDO *et al.*, 2013).

### 3.4 PROTEÍNAS

As proteínas são moléculas que desempenham uma ampla gama de funções no organismo, dentre as quais pode-se destacar a estruturação celular, armazenamento e transporte de substâncias, catálise e defesa.

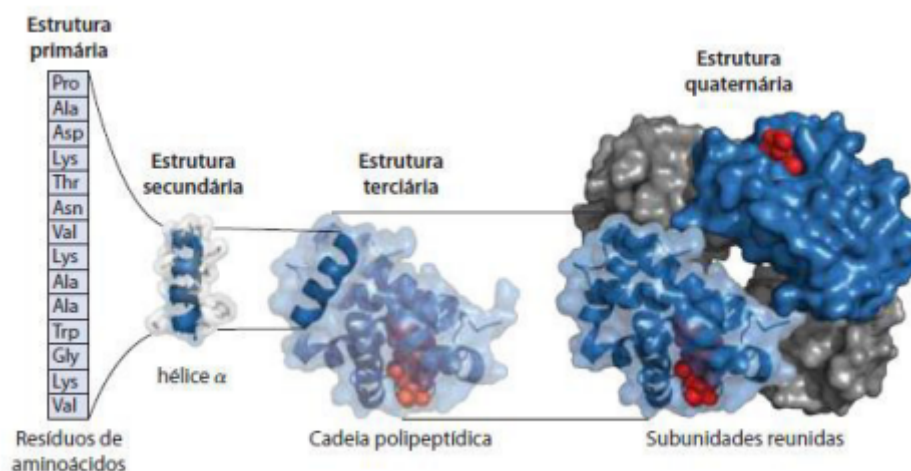
As proteínas são formadas por unidades moleculares conhecidas como aminoácidos, os quais se conectam entre si por meio de ligações peptídicas. Para a formação de uma proteína, os aminoácidos se ligam em sequência linear por meio de ligações covalentes, formando cadeias peptídicas. A partir dessas cadeias, os organismos conseguem sintetizar produtos diversificados como enzimas, hormônios, anticorpos, entre outras muitas substâncias com propriedades específicas (NELSON; COX, 2014).

As propriedades de uma proteína são determinadas pelo tipo, número e organização estrutural dos resíduos de aminoácidos que a compõem. Todas as proteínas encontradas nos organismos vivos são construídas a partir de 20 aminoácidos essenciais. Esses aminoácidos podem ser combinados de inúmeras maneiras estruturais distintas, permitindo a existência de proteínas com uma ampla gama de propriedades físicas, químicas e biológicas (BRANDEN; TOOZE, 1999).

Existem quatro tipos de estrutura proteica em termos de aspectos estruturais. A estrutura primária é composta por uma sequência linear de aminoácidos ligados por ligações peptídicas. A estrutura secundária é formada pela organização espacial das cadeias peptídicas, sendo a conformação mais comum a estrutura helicoidal. A estrutura terciária descreve o arranjo tridimensional de um polipeptídeo. Por fim, a estrutura quaternária é caracterizada pelos arranjos espaciais entre duas ou mais

subunidades peptídicas (NELSON; COX, 2014). Essas estruturas podem ser observadas pela Figura 5.

Figura 5 - Representação das estruturas das proteínas



Fonte: NELSON e COX, 2014

No que diz respeito às proteínas presentes no bagaço de malte, pode-se citar algumas como as hordeínas, proteína Z e a LTP1. As hordeínas são prolaminas, proteínas de armazenamento presentes nos grãos de cevada, constituindo aproximadamente 40% da quantidade total de proteína encontrada nesses grãos. A forma da proteína Z encontrada na cerveja é derivada da proteína Z da cevada, a qual existe em duas isoformas: a proteína Z4 e a proteína Z7. A proteína Z permanece praticamente inalterada durante todo o processo de produção da cerveja, uma vez que devido às suas propriedades inibitórias das proteases ela é termoestável e resistente à quebra enzimática. Na cevada e no malte, a proteína Z4 é a mais predominante, representando cerca de 80% da quantidade total. A "Lipid Transfer Protein 1" (LTP1) encontrada na cerveja é derivada da LTP1 presente na cevada. É uma proteína básica constituída por 91 aminoácidos e sua conformação é composta por quatro segmentos em  $\alpha$ -hélice (SILVA *et al.*, 2006).

### 3.5 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS

A extração é um processo no qual uma substância é segregada de uma mistura ou matriz mediante a aplicação de um solvente de extração. Esse método é comumente empregado quando se busca isolar uma substância específica de uma mistura complexa, como na extração de compostos orgânicos de plantas, na obtenção de produtos naturais de uma matriz biológica, ou na separação de substâncias químicas provenientes de resíduos industriais. Métodos específicos de extração, como extração sólido-líquido, extração por arraste de vapor ou extração com fluido supercrítico, podem ser aplicados com base nas propriedades e características da substância de interesse a ser isolada.

Existem algumas abordagens que envolvem a extração e separação de proteínas, levando em consideração as propriedades físico-químicas e estruturais da matéria-prima utilizada. Essas propriedades englobam fatores como solubilidade, hidrofobicidade, massa molar, ponto isoelétrico, entre outros (TOLDRÁ; NOLLET, 2013). Portanto, isso implica que a escolha da técnica de extração mais apropriada assume um papel crucial e está diretamente vinculada à finalidade específica da proteína que se pretende extrair (BEDIN *et al.*, 2018).

Tsermoula e colaboradores (2019) evidencia que alguns métodos são convencionalmente empregados na extração de proteínas e entre as várias abordagens que podem ser desenvolvidas, destacam-se a extração alcalina, a precipitação isoelétrica, o fracionamento a seco, além do uso de solventes inorgânicos e orgânicos, todos amplamente utilizados.

#### 3.5.1 EXTRAÇÃO ALCALINA

Na técnica de extração alcalina as proteínas são tornadas solúveis ao aumentar o pH além do ponto isoelétrico (pI), resultando em moléculas de proteína carregadas negativamente e solúveis em soluções aquosas. Posteriormente, realiza-se a centrifugação para eliminar os materiais insolúveis, compostos por moléculas não proteicas. Em seguida, as proteínas solubilizadas são precipitadas ajustando o pH do extrato ao pI, onde a proteína atinge uma carga líquida zero.

A precipitação das proteínas no ponto isoelétrico se dá devido à interação das moléculas de água com as cargas das proteínas, sendo essas cargas positivas para valores de pH menores que o ponto isoelétrico, uma vez que grupos funcionais tendem a estar protonados (captam  $H^+$ ), e negativas para valores de pH maiores, pois os grupos funcionais tendem a estar predominantemente desprotonados (perdem  $H^+$ ). O ponto isoelétrico da proteína se dá com o pH de menor solubilidade proteica, geralmente valores na faixa de 3,5 a 6,5, mas que podem variar dependendo da matéria prima. No ponto isoelétrico, as proteínas apresentam carga nula, com igual número de cargas positivas e negativas nas moléculas, pois o número de radicais ácidos desprotonados ( $-COO^-$ ) é igual ao número de radicais básicos protonados ( $-NH_3^+$ ), assim as interações proteína-proteína aumentam, uma vez que as forças eletrostáticas moleculares estão em um mínimo, fazendo com que menos água interaja com as moléculas de proteína, formando uma condição favorável para que as moléculas de proteína se aproximem, tendam a se agregarem e a formar precipitados. (BEDIN *et al.*, 2018).

A maior vantagem da extração alcalina está na sua simplicidade e na facilidade de acesso aos reagentes necessários para conduzir o processo de extração. No entanto, apesar de ser amplamente empregado, o método de extração alcalina de proteínas apresenta alguns desafios e questões associadas a essa abordagem.

Condições como temperatura, pH, concentração de sais, solventes orgânicos miscíveis em água, solutos e entre outros, podem acarretar a degradação das proteínas, levando à quebra das ligações peptídicas e à perda da estrutura tridimensional das proteínas, comprometendo sua funcionalidade e qualidade. Além disso, podem ocorrer reações secundárias indesejáveis, aumentando o risco de toxicidade.

Esse processo é conhecido como desnaturação das proteínas. Durante a desnaturação, a proteína transita de seu estado naturalmente dobrado e biologicamente ativo para um estado desdobrado e biologicamente inativo. Esse fenômeno pode resultar em agregação, coagulação, redução da solubilidade e perda

das propriedades funcionais da proteína, como gelificação e emulsificação (HAQUE *et al.*, 2013).

Dessa maneira, torna-se visível a importância de se ter o controle das condições adequadas e que melhor interagem para uma boa recuperação da proteína.

### 3.5.2 VANTAGENS DO ISOLADO DE PROTEÍNA

Alguns estudos vêm sendo empregados ao longo dos anos utilizando apenas a farinha do bagaço de malte para produzir pães com fonte de fibras (TEIXEIRA *et al.* 2018); melhoramento nutricional de cookies de canela (WEEGE *et al.* 2017); barras de cereal e biscoitos (BARTZ *et al.*, 2007; STOJCESKA *et al.*, 2008).

Os estudos citados acima cumpriram seu objetivo principal de obter um produto com um valor nutricional elevado em comparação com os de mercado. Porém, os níveis de aceitação visual e sensorial destes produtos alcançaram apenas a média, quando adicionados a menor quantidade possível de farinha do bagaço de malte.

Sendo assim, o isolamento da proteína como base para a suplementação humana seria de melhor utilização e aproveitamento dessa matéria-prima (MASSARDI *et al.* 2020).

## 3.5 PLANEJAMENTO FATORIAL

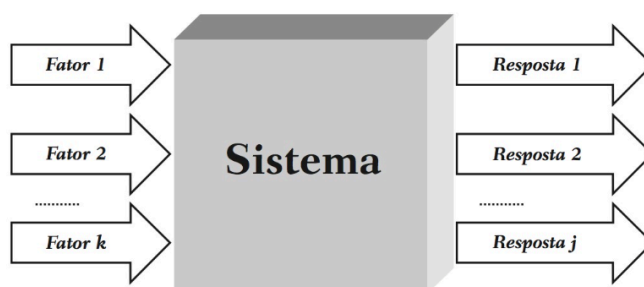
De forma geral, experimentos são procedimentos planejados conduzidos de forma a manipular diretamente as variáveis relacionadas com o objetivo do estudo. Desta forma, de acordo com Barros Neto (2010), experimentos residem na identificação da influência de uma ou mais variáveis sobre uma outra variável de interesse. Na linguagem estatística, isso se refere ao desejo de compreender como a resposta está relacionada aos fatores, buscando identificar as dependências existentes.

Ao planejar qualquer experimento, a etapa inicial é determinar quais são os fatores e as respostas que são de interesse. Sendo os fatores as variáveis que o experimentador pode manipular ou controlar e as respostas constituem as variáveis

de saída do sistema nas quais estamos interessados e que podem ser afetadas, ou não, por modificações nos fatores (NETO, 2010).

Um conjunto de fatores, designados por  $F_1, F_2, \dots, F_k$ , exerce influência sobre um sistema em análise, resultando em respostas identificadas como  $R_1, R_2, \dots, R_j$ , representadas na Figura 6.

Figura 6 - Representação sistemática de um planejamento ligando os fatores (variáveis de entrada) as respostas (variáveis de saída)



Fonte: BARROS NETO *et al.*, 2010

### 3.5.1 PLANEJAMENTO FATORIAL $2^3$

O planejamento experimental representa uma ferramenta utilizada para investigar o efeito conjunto de múltiplos fatores sobre uma variável resposta específica. Uma das técnicas amplamente reconhecidas é o planejamento fatorial, no qual estão envolvidos  $k$  fatores assumindo diferentes níveis. O planejamento mais simples ocorre quando os fatores estão presentes em apenas dois níveis. Nesse caso, ao realizar um experimento com  $k$  fatores em dois níveis, são coletadas  $2 \times 2 \times \dots \times 2$  ( $k$  vezes) =  $2^k$  observações da variável resposta. Desse modo, esse tipo de planejamento é denominado experimento fatorial  $2^k$  (NEVES *et al.*, 2002). Com base nisso, ao avaliarmos um planejamento fatorial  $2^3$ , serão realizados pelo menos  $2^3 = 2 \times 2 \times 2 = 8$  experimentos.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIA PRIMA

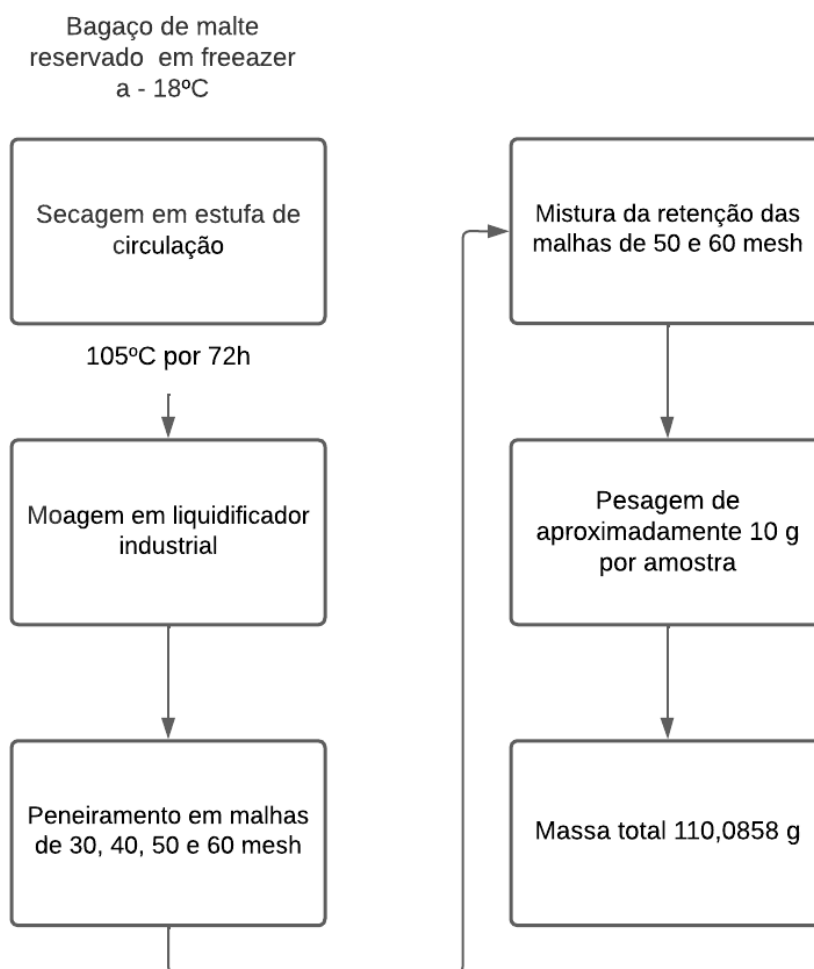
O bagaço de malte utilizado no estudo foi fornecido pela cervejaria Mangue Beer (Vila Velha - ES) e reservado em embalagens plásticas em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ . As amostras foram descongeladas e secas em estufa de circulação de ar a  $105^{\circ}\text{C}$  por 72h. Após isso foram moídas em liquidificador industrial.

O teor de proteínas do material foi determinado previamente, pelo método semi-micro Kjeldahl, por integrantes do grupo de pesquisa, sendo igual a  $18,89\% \pm 0,87\%$ . Pelo método, inicialmente 0,3 g de amostra foi pesado em papel manteiga que foi fechado e colocado no tubo de digestão. Nesse tubo, foram adicionados 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 2 g da mistura catalisadora composta por sulfato de cobre e sulfato de potássio na proporção de 1:20. A etapa de destilação foi realizada em destilador de nitrogênio específico para esse tipo de análise da marca Tecnal, modelo TE-364. Nesse procedimento é adicionado 20 mL de NaOH 40% a amostra digerida e o gás amônia é recolhido em um erlenmeyer contendo solução de ácido bórico 2% (m/v). Após completa destilação da amônia, o conteúdo do frasco coletor foi titulado com solução padronizada 0,1 M de ácido clorídrico utilizando verde de bromocresol e vermelho de metila como indicador. Esta metodologia é baseada em Galvani e Gaertner (2006). O fator de conversão de nitrogênio em proteína utilizado foi de 5,7.

### 4.2 PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

O procedimento metodológico da preparação do bagaço de malte está esquematizado no fluxograma apresentado na Figura 7.

Figura 7 - Fluxograma experimental da preparação da matéria prima



Fonte: Autoria própria, 2024

Alguns desses processos estão dispostos na Figura 8 que representa algumas etapas do fluxograma como o material seco, o liquidificador industrial utilizado para moagem do bagaço, a retenção do material nas peneiras e a mistura das retenções em 50 e 60 mesh.

Figura 8 - Matéria prima seca, moída, peneirada e mistura das retenções das peneiras de 50 e 60 mesh



Fonte: Autoria própria, 2024

### 4.3 EXTRAÇÃO ALCALINA

Foi empregado um planejamento fatorial  $2^3$  com triplicata no ponto central para avaliar os efeitos das variáveis independentes de temperatura, pH e tempo de extração no rendimento da extração alcalina das proteínas do bagaço de malte. Os valores utilizados para cada uma das variáveis independentes estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Variáveis do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> utilizado para realização da extração alcalina

<b>Fatores</b>	<b>(-1)</b>	<b>0</b>	<b>(+1)</b>
<b>Temperatura</b>	30	45	60
<b>pH</b>	8	10	12
<b>Tempo</b>	30	45	60
<b>Ensaio</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>1</b>	-1	-1	-1
<b>2</b>	+1	-1	-1
<b>3</b>	-1	-1	+1
<b>4</b>	+1	-1	+1
<b>5</b>	-1	+1	-1
<b>6</b>	+1	+1	-1
<b>7</b>	-1	+1	+1
<b>8</b>	+1	+1	+1
<b>9</b>	0	0	0
<b>10</b>	0	0	0
<b>11</b>	0	0	0

Fonte: Autoria própria, 2023

O procedimento de extração alcalina realizado foi embasado na metodologia de Bedin (2018).

A princípio, dispersou-se 10 g de bagaço de malte seco em 100 mL de água destilada e o pH foi ajustado para as condições determinadas na Tabela 3 para cada experimento, com solução de hidróxido de sódio 1 M.

Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 30 minutos e filtradas em peneira de nylon, a fim de separar o resíduo sólido do sobrenadante contendo as proteínas solubilizadas.

O pH do sobrenadante foi ajustado para 4,7 com ácido clorídrico 1M, sendo centrifugado 3000 rpm durante 50 minutos.

Esse segundo precipitado, agora contendo as proteínas extraídas, foi ressuspenso em água destilada, neutralizado até pH 7,0 e seco a 70°C em estufa a vácuo durante sete dias.

Para calcular o rendimento da extração em porcentagem, relacionou-se a quantidade de proteína extraída do bagaço de malte e o teor de proteína no bagaço de malte, expresso na Equação 1.

$$\text{Rendimento} = \text{Proteína extraída} / \text{Proteína do bagaço de malte} \times 100 \quad (1)$$

#### 4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi estabelecido uma ordem de experimentos por meio do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> e a partir dele analisadas em diferentes condições as variáveis para avaliar seus efeitos sobre a extração alcalina, em seguida realizado um cálculo de rendimento (1). Um gráfico de Pareto foi elaborado para verificar a significância das variáveis independentes, utilizando coeficiente de significância de 95%. A análise estatística foi realizada utilizando o auxílio do software STATISTICA.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos da extração proteica do bagaço de malte em diferentes condições experimentais estão representados na Tabela 3, sendo que esses resultados representam as melhores condições para a extração de proteínas do bagaço de malte.

Analisando a Tabela 3, verifica-se que os maiores rendimentos de proteínas foram obtidos em extrações com a presença do pH mais alcalino, ou seja, pH igual a 12. Sendo os maiores valores dos rendimentos obtidos, 32,56%, 17,63%, 11,64% e 7,99%. Em contrapartida, nos ensaios com o menor pH, pH igual a 8, os rendimentos variaram entre 1,12 e 2,61 %. Estes resultados fundamentam-se na literatura, segundo a qual quanto maior o pH do meio maior será a extratibilidade de

proteínas (RICKERT *et al.*, 2004). Em estudos pela busca da otimização do método de extração alcalina, Bizzotto e colaboradores (2006), relataram que ao empregar o valor mais elevado de pH o efeito do rendimento de extração foi mais benéfico, uma vez que no pH 12 extraiu-se 65% das proteínas e no pH 10 a extração atingiu um valor significativamente mais baixo de 59%.

Uma possível explicação na literatura reside no fato de que as proteínas extraídas em pH alcalino tendem a predominar em espécies carregadas negativamente devido à ionização dos grupos carboxílicos e à desprotonação dos grupos amina. Isso resulta em uma intensificação da interação entre a proteína e o solvente, uma vez que a repulsão eletrostática entre as proteínas facilita sua separação e promove sua interação com o solvente. Tornando-se mais fácil a extração em pH elevados (KINSELLA *et al.*, 1989; LAWAL, 2004).

Nesse contexto, mais estudos apresentaram resultados semelhantes, como Jarpa-Parra e colaboradores (2014) que obtiveram aumento do rendimento de extração ao avaliarem valores crescentes de pH alcalinos para a obtenção de proteína de lentilha. Jiamyangyuen e colaboradores (2005) também apresentaram resultados similares ao extraírem proteína do farelo de arroz com variação do pH entre 2 a 12 obtiveram crescimento de teores de proteína com o aumento do pH do meio ácido para o alcalino.

Acerca da variável temperatura, observou-se um aumento no rendimento de proteína para amostras extraídas a temperatura de 60°C em pH 12, como representado nos ensaios 6 e 8. Em comparação, temos os ensaios 5 e 6, apresentando uma variação da temperatura de 30°C para 60°C e os ensaios 7 e 8 com a mesma variação. Nesses ensaios a única variável alterada é a temperatura e o rendimento aumentou de 11,64 para 17,63%, nos ensaios 5 e 6, e de 7,99 para 32,56 %, nos ensaios 7 e 8, indicando que um aumento na temperatura tem como resultado um aumento no rendimento de extração.

Isso se deve ao fato de que ao se aumentar a temperatura da reação, conseqüentemente ocorre um aumento na movimentação das moléculas, o que

resulta em uma elevação na taxa de transferência de massa na região de contato entre o sólido e o líquido. Dessa maneira, esse aumento de temperatura impulsionou uma maior transferência de massa e solubilidade, diminuindo a viscosidade da solução e, por conseguinte, ampliando a eficiência do processo de extração (BIRD *et al.*, 1976).

Tabela 3 - Porcentagem do rendimento de proteína obtida

<b>Ensaio</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
<b>1</b>	30 (-1)	8 (-1)	30 (-1)	2,02
<b>2</b>	60 (+1)	8 (-1)	30 (-1)	1,52
<b>3</b>	30 (-1)	8 (-1)	60 (+1)	2,61
<b>4</b>	60 (+1)	8 (-1)	60 (+1)	1,12
<b>5</b>	30 (-1)	12 (+1)	30 (-1)	11,64
<b>6</b>	60 (+1)	12 (+1)	30 (-1)	17,63
<b>7</b>	30 (-1)	12 (+1)	60 (+1)	7,99
<b>8</b>	60 (+1)	12 (+1)	60 (+1)	32,56
<b>9</b>	45 (0)	10 (0)	45 (0)	1,86
<b>10</b>	45 (0)	10 (0)	45 (0)	1,68
<b>11</b>	45 (0)	10 (0)	45 (0)	2,48

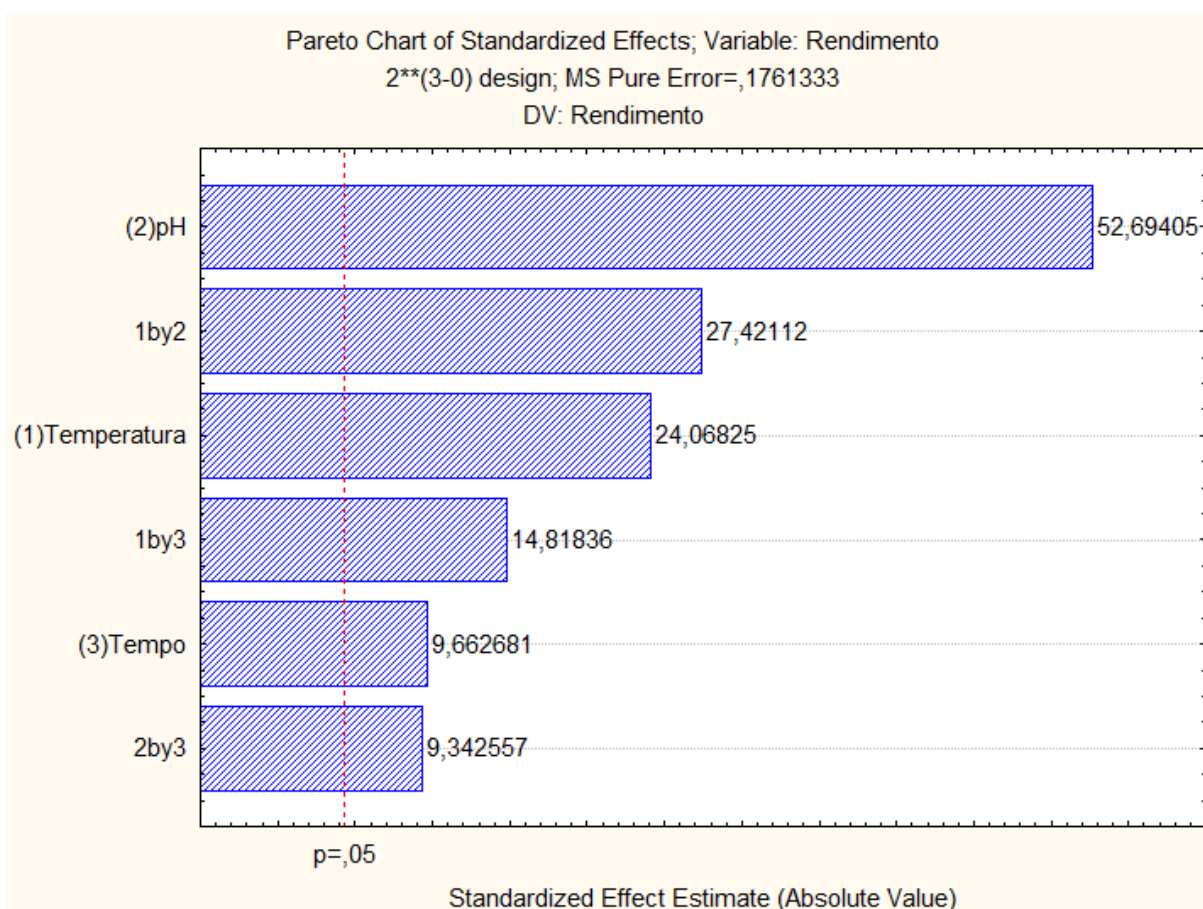
Fonte: Autoria própria, 2024

A respeito do tempo de extração, ao compararmos os ensaios 6 e 8 é possível analisar que o aumento no tempo de extração favorece o rendimento do processo, apresentando uma variação no rendimento de 17,63% para 32,56%. Entretanto, esse fator não se torna permanente ao compararmos os ensaios 2 e 4, onde o rendimento diminui independente da variável tempo. Pode-se compreender que a variável tempo tem menor interferência no resultado de extração comparado às

demais variáveis, como por exemplo, ao compararmos os ensaios 4 e 6 que apesar do aumento da temperatura, a variável pH se torna mais relevante mediante ao rendimento de extração.

No gráfico de Pareto representado na Figura 9 estão dispostas as variáveis em ordem de significância da análise realizada. Por meio do gráfico plotado, entende-se que houve maior significância para as variáveis de pH e temperatura isoladamente. Também foi significativa a variável tempo, entretanto essa variável operou com menor significância dentre as análises, o que resume que ela exerce influência sobre o rendimento, porém não tão relevante quanto às variáveis pH e temperatura que apresentaram maior significância. Como foi observado nos parágrafos acima pela comparação dos rendimentos ensaio a ensaio.

Figura 9 - Gráfico de Pareto representando em ordem de significância as variáveis analisadas

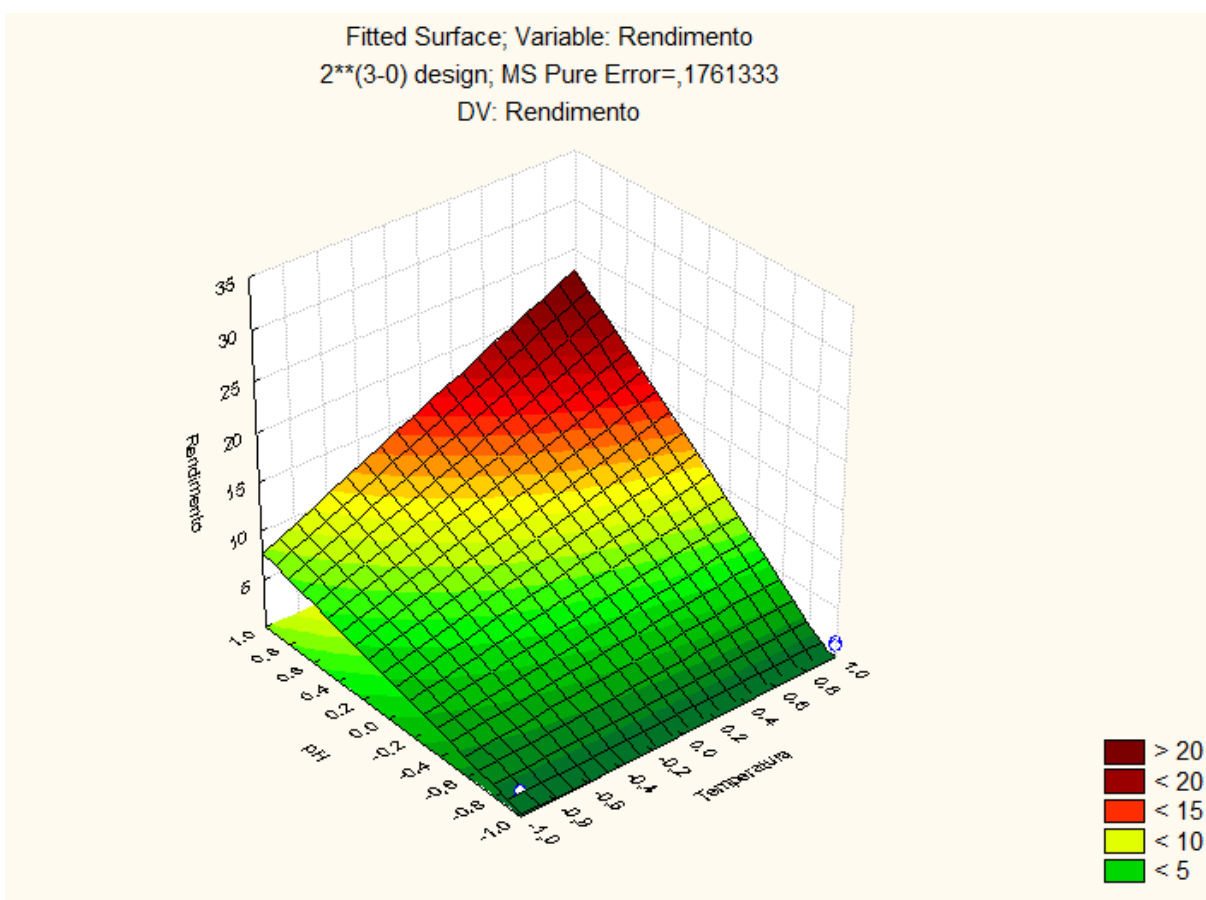


Fonte: Software Statistica, 2024

As Figuras 10, 11 e 12 representam a superfície de resposta para melhor visualização da interação entre as variáveis independentes. Ressalta-se que a variável não representada na superfície de resposta foi fixada no ponto central.

A Figura 10 apresenta a interação entre pH e temperatura no rendimento do processo de extração. É possível perceber que o aumento do pH favorece o rendimento mesmo em temperaturas mais baixas, mas à medida que a temperatura aumenta o efeito do pH é mais pronunciado. De acordo com a Tabela 4, a maior extração das proteínas aconteceu nos níveis +1 e +1, que respectivamente correspondem aos valores de 12 e 60°C para pH e temperatura. Ou seja, a quantidade de proteínas recuperadas é maior com o aumento do pH e da temperatura.

Figura 10 - Gráfico de superfície de resposta do rendimento de extração em função das variáveis pH e temperatura

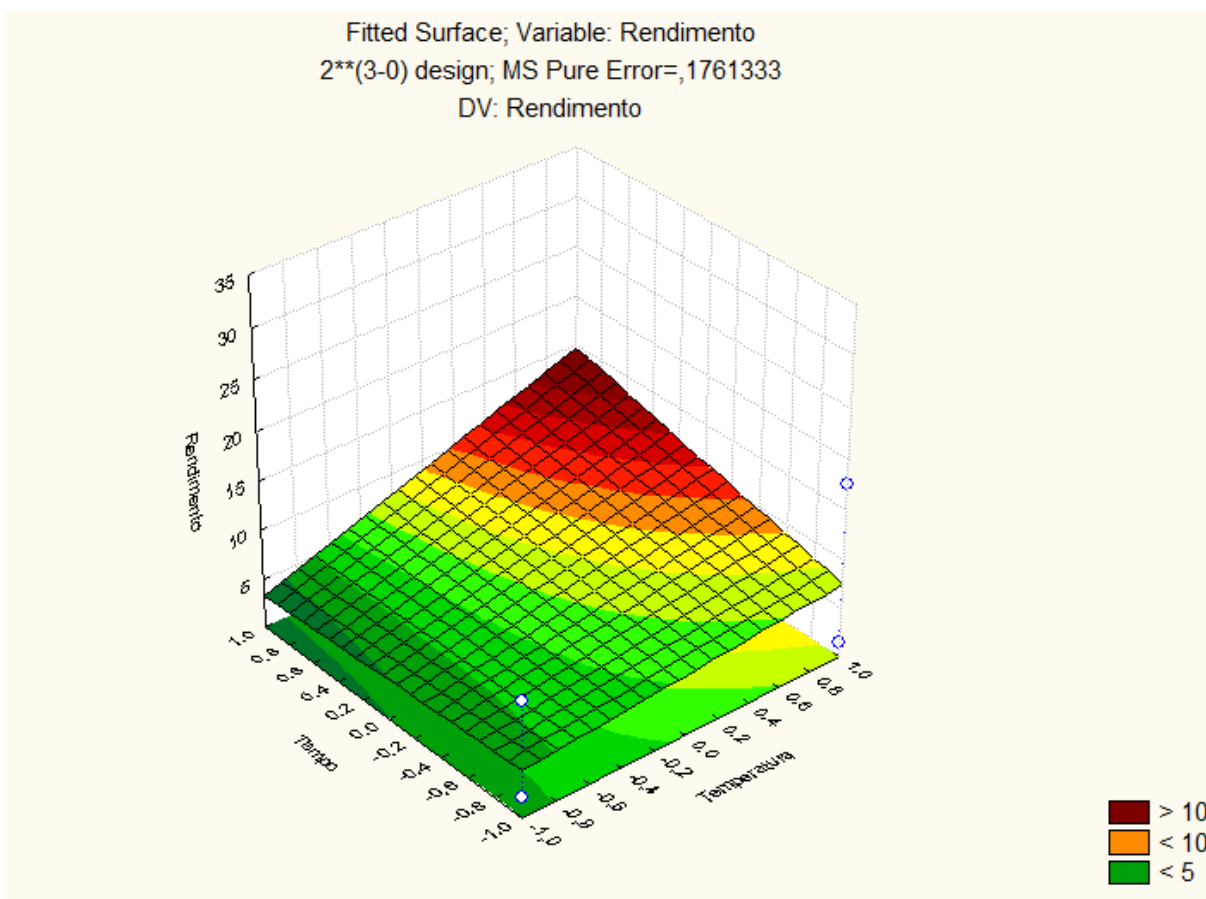


Fonte: Software Statistica, 2024

Em comparação, nas Figuras 11 e 12 estão retratados os gráficos de superfície de respostas que interagem as variáveis de maior relevância, pH e temperatura, com a variável tempo de menor significância para o rendimento de extração da proteína solúvel.

Na Figura 11, pode-se perceber que existe uma influência expressiva da variável temperatura sobre o fator tempo, uma vez que a medida que a temperatura aumenta o efeito da variável tempo torna-se mais expressivo, visto pela inclinação na superfície de resposta. Existindo uma variância na resposta com uma tendência de maximização nos níveis +1 de ambas as variáveis.

Figura 11 - Gráfico de superfície de resposta do rendimento de extração em função das variáveis tempo e temperatura



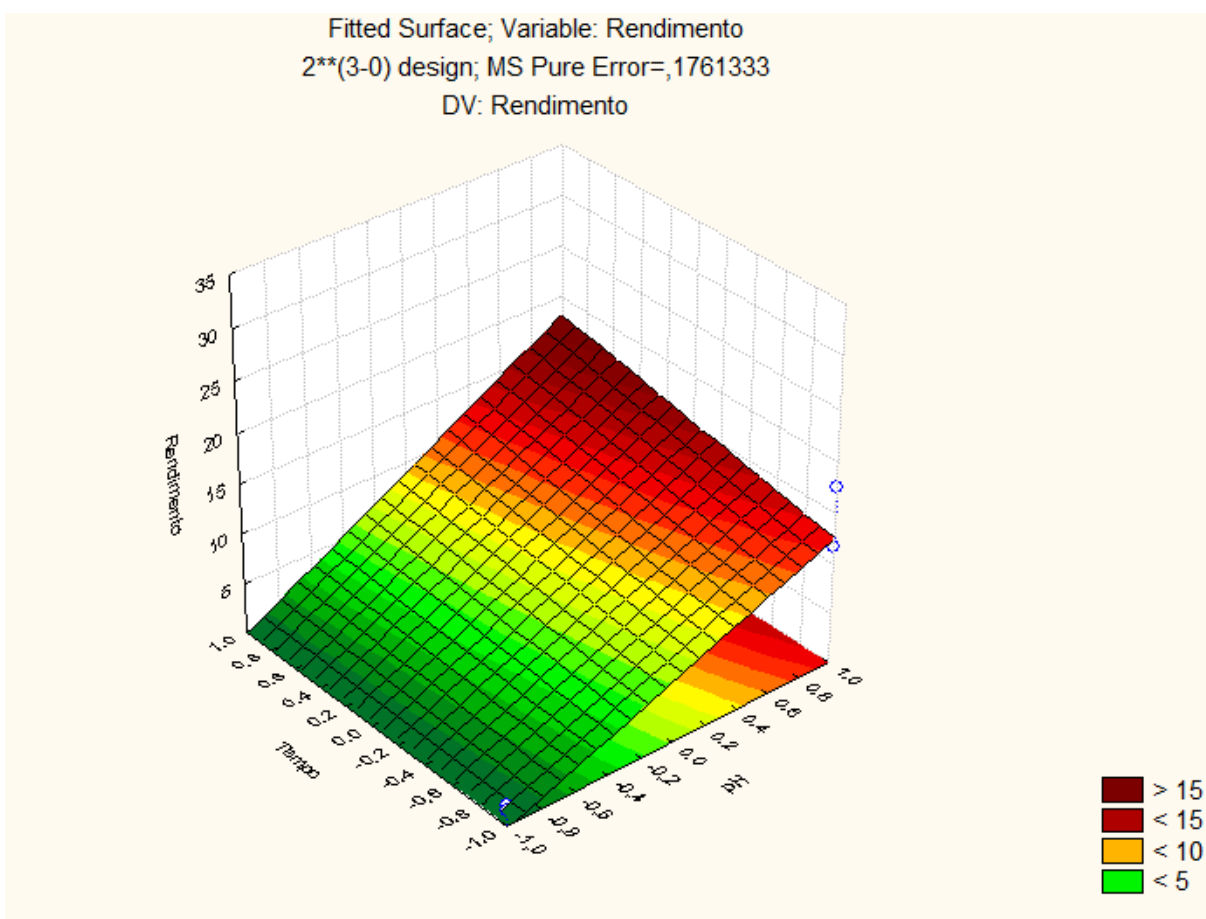
Fonte: Software Statistica, 2024

A Figura 12 apresenta uma influência considerável do pH sobre o tempo utilizado. Onde para valores elevados de pH, mesmo tempos mais curtos ocasionaram

maiores rendimentos. Demonstrando que a variável tempo pode não ser um fator determinante sobre o rendimento de extração.

Outros estudos apresentam a mesma característica sobre essa variável, como descrito por Wang e Wang (2004), ao estudarem o efeito do tempo de ação do ultra-som para aumentar o rendimento de extração em farinha de arroz comercial, observaram nesse experimento que o tempo de ação não alterou o rendimento da extração.

Figura 12 - Gráfico de superfície de resposta do rendimento de extração em função das variáveis tempo e pH



Fonte: Software Statistica, 2024

## 6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que foi possível fazer a recuperação da proteína presente no bagaço de malte e de acordo com o estudo das variáveis de influência para o procedimento de extração alcalina obteve-se que o pH e a temperatura são as variantes de maior relevância para obtenção da variável de interesse. Sendo o fator tempo a variável que apresentou menor significância em relação às demais variáveis. Diante disso, pode-se dizer que sua melhor condição aplicável de forma a otimizar o processo em uma possível indústria é na faixa inferior, ou seja, no tempo de 30 minutos.

Os maiores rendimentos de proteínas solúveis do bagaço de malte foram obtidos em extrações com a presença do pH mais alcalino (12) e maior temperatura (60°C), sendo os maiores valores de rendimento (%): 32,56% e 17,63%. A metodologia de superfície de resposta empregada possibilitou a melhor interpretação da influência e interação entre as variáveis analisadas para se obter a resposta de interesse.

A compreensão desses parâmetros e sua influência na extração de proteínas do bagaço de malte pode contribuir na otimização de processos para sua obtenção em maiores escalas de forma econômica, dando sentido a aplicação do bagaço de malte como produto de valor agregado e diminuindo sua função como apenas produto de descarte no processo cervejeiro.

## REFERÊNCIAS

ALGETEC – SOLUÇÕES TECNOLÓGICAS EM EDUCAÇÃO, Laboratório de Tecnologia de Alimentos: Reação de Maillard.

ALIYU, S.; BALA, M. Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *Journal of Biotechnology*, v. 10; n. 3, p. 324-331, 2011.

AMORIELLO, T. *et al.* Propriedades Tecnológicas e Aceitabilidade de Produtos de Panificação Enriquecidos com Bagaço de Malte. *Foods*. Roma, p. 1-12. 9 set. 2020.

ANUÁRIO DA CERVEJA. Ministério da Agricultura e Pecuária – MAPA , CervBrasil, 2022.

BANDO, Y. *et al.* A microbiological study of biohydrogen production from beer less. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38, p. 2709 - 2718, 2013.

BEDIN, S. Extração de proteína do farelo de arroz: processo alcalino, por ultrassom e micro-ondas. Campinas-SP, 2018.

BRASIL. Constituição (1994). Decreto nº 9902, de 08 de julho de 2019. Padronização, classificação, registro, inspeção, produção e fiscalização de bebidas. Brasília.

BRUST, L. A. C. *et al.*, Enfermidades em bovinos associadas ao consumo de resíduos da cervejaria. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, n. 12, p. 956-964, 2015.

BIANCO, A. *et al.* The role of microorganisms no biotransformation of brewers' spent grain. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020.

BIRD, R. B.; STEWART, W. E.; LIGHTFOOT, E. N. Transport Phenomena, New York, John Wiley & Sons, Inc., 2ª Edição, 1976.

BIZZOTTO, C. S. *et al.* Uso da pancreatina e do carvão ativado no preparo de hidrolisados protéicos de arroz com baixo teor de fenilalanina. Revista Tecnológica, v. 10, n. 1, p. 9-30, jan./jun. 2006b.

BOURSCHEIDT, C.T. *et al.* Estudo da secagem do bagaço de malte úmido obtido do processo industrial de cervejaria. In: II INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON AGRICULTURAL AND AGROINDUSTRIAL WASTE MANAGEMENT, 2, p. 11-15, Foz do Iguaçu, 2011.

CARVALHO, J.; SIMÕES, A.; MEDEIROS, M.; RODRIGUES, A. Utilização do bagaço de malte como alimentação animal: uma alternativa para o pequeno produtor. Cadernos UniFOA. Volta Redonda, v. 16, n. 46, 2021. DOI: 10.47385/cadunifoa.v16.n46.3411.

COELHO NETO, D. M.; FERREIRA, L. L. P.; SAD, C. M. S.; CASTRO, E. V. R.; BORGES, W. S.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA Jr, V.\*. CONCEITOS QUÍMICOS ENVOLVIDOS NA PRODUÇÃO DA CERVEJA: UMA REVISÃO. Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (1), 10 fev, 2020.

CORDEIRO, L. G. Caracterização e viabilidade econômica do bagaço de malte oriundo de cervejarias para fins energéticos, 2011.

D. JUNIOR, Amaro A.; VIEIRA, Antonia G.; FERREIRA, Taciano P.. Processo de Produção de Cerveja. Revista Processos Químicos, Anápolis, v. 6, n. 3, p. 61-71, jul. 2009.

DRAGONE, G; SILVA, J. B. A. Cerveja, in: VENTURINI FILHO, W. G. Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia. São Paulo: Blucher, 2010.

FERREIRA, P.; MATTOS, E.; ALMERINDO, G.; ALVES, F.; DAL-BÓ, A.; Obtenção e Caracterização Da Farinha De Bagaço De Malte. Congresso Brasileiro de tecnologia de Cereais e Panificação. Rio de Janeiro, 2020.

FRANCISQUINI, J. A.; MARTINS, E.; SILVA, P. H. F.; SCHUCK, P.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Reação de Maillard: uma revisão. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. v. 72, n. 1, p. 48-57, 2017.

GAO, Zili; SHEN, Peiyi; LAN, Yang; CUI, Leqi; OHM, Jae-Bom; CHEN, Bingcan; RAO, Jiajia. EFFECT OF ALKALINE EXTRACTION PH ON STRUCTURE PROPERTIES, SOLUBILITY, AND BEANY FLAVOR OF YELLOW PEA PROTEIN ISOLATE. Elsevier. Fargo, p. 1-9. 29 jan, 2020.

GALVANI, F., GAERTNER, E., Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. EMBRAPA: Circular técnica 63. Corumbá, MS, 2006.

GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; FERREIRA, P.D.S. Alimentos para gado de leite. Editora FEPMVZ, 2009.

HAQUE, M. A., ALDRED, P., CHEN, J., BARROW, C. J., ADHIKARI, B. Comparative study of denaturation of whey protein isolate (WPI) in convective air drying and isothermal heat treatment processes. Food Chemistry, v. 141, p. 702 - 711, 2013.

HE, Y. *et al.* We fractionation process to produce high protein and high fiber products from brewer's spent grain. Food and Bioproducts Processing, v. 117, p. 266-274, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985.

JARPA-PARRA, M.; BAMDAD, F.; WANG, Y.; TIAN, Z.; TEMELLI, F.; HAN, J.; CHEN, L. Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. *LWT - Food Science and Technology*, v. 57, p. 461- 469, 2014.

JIAMYANGYUEN, S.; SRIJESDARUK, V.; HARPER, W. J. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, v. 27, n. 1, p. 55-64, 2005.

KINSELLA, J.; PHILLIPS, L. Structure-function relationships in food proteins, film and foaming behavior. *Journal of the American Oil Chemists Society*, p. 52–77, 1989.

KUIAVSKI, M. P., BEZERRA, J. R. M. V., TEIXEIRA, M., & RIGO, M. (2020). Elaboração de pães com adição de farinha do bagaço de malte/Preparation of breads with the addition of malt bagasse flour. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 53208–53221. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-823>

LAWAL, O. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobossa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. *Food Chemistry*, v. 86, p. 345–355, 2004.

LI, Wanying; YANG, Huirong; COLDEA, Teodora Emilia; ZHAO, Haifeng. MODIFICATION OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF BREWER'S SPENT GRAIN PROTEIN BY ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION. Elsevier. Guangzhou, p. 1-9. 11 nov. 2020.

LYNCH, K.; STEFFEN, E.; ARENDT, E. Brewer's spent grain: A review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, v. 122, p 553-568, 2016.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Assessoria de Gestão Estratégica (AGE), 2022.

MALTE, Escola Superior de Cerveja e. MOAGEM DO MALTE: POR QUE É TÃO IMPORTANTE NA PRODUÇÃO DA CERVEJA? 2021.

MASSARDI, M. M *et al.* CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO DE MALTE E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL PARA OBTENÇÃO DE PRODUTOS DE VALOR AGREGADO. The Journal Of Engineering And Exact Sciences. Viçosa, p. 83-91. fev. 2020.

MENEGHETTI, C. C.; DOMINGUES, J. L. Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. Revista Eletrônica Nutritime, v.5 n. 02, p. 512-536, 2008.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Chemical characterization and liberation of pentose sugars from brewer's spent grain. Journal of Chemical Technology Biotechnology, v. 8, n.3, 268-274. 2006.

MUSSATTO, S. I.; ROBERTO, I. C. Aproveitamento integral de subproduto da indústria cervejeira em processos químicos e biotecnológicos. Industrial Crops and Products, v. 25, p. 231-237. 2007.

NELSON D. E., COX, M. M. Princípios de bioquímica de Lehninger. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NESPOLO, C. R.; OLIVEIRA, F. A.; PINTO, F. S. T.; OLIVEIRA, F. C. Práticas em tecnologia de alimentos. Porto Alegre: Artmed, 2015.

NETO, B.; SCARMINIO, I.; BRUNS, R. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Grupo A, 2010. E-book. ISBN 9788577807130.

NEVES, C. F. C., SCHVARTZMAN, M. M. A. M.; J., E. Variables search technique applied to gas separation. Química Nova. v.25, n 2, p.327-329, 2002.

OLIVEIRA, J. S.; MARTINS, C. E. Silagem: Agência de Informação da Embrapa;

REBELLO, Flávia de Floriani Pozza. PRODUÇÃO DE CERVEJA: revisão. Revista Agrogeoambiental, Inconfidentes - Mg, v. 1, n. 3, p. 145-155, 01 dez. 2009.

REINOLD, M.R. Manual prático de cervejaria, São Paulo: ADEN Editora e Comunicações, 1997. 214p.

RICKERT, D.A.; MEYER, M.A.; HU, J.; MURPHY P.A. Effect of Extraction pH and Temperature no Isoflavone and Saponin Partitioning na. Food Chemistry and Toxicology, v. 69, n. 8, P. 623-631, 2004.

SANTIAGO, B. L. S. “AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO ALCALINO DO BAGAÇO DE MALTE E SEU EFEITO SOBRE A BIOCONVERSÃO DAS FRAÇÕES AÇUCARADAS EM ETANOL” 2013. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

SAVIN, R.; AGUINAGA, A. Los requerimientos de la industria: calidad comercial e industrial y sus determinantes. In: MIRALLES, D. J.; BENECH-ARNOLD, R.L.; ABELEDO, G. Buenos Aires: Gráfica, p. 205-240, 2011.

SINDCERV - SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA, 2022.

SPADOTTO, C.; RIBEIRO, W. Gestão de Resíduos na Agricultura e Agroindústria. Botucatu: Fepaf - Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2006. 319 p.

TEIXEIRA, A.; SÉKULA, N.; MULLER, B.; BEZERRA, J.; RIGO, M.; Avaliação físico-química e sensorial de pães com diferentes proporções de farinha de bagaço de malte de cevada como fonte de fibra. Revista Ambiência, Guarapuava, v. 3, n. 14, p. 439-448, dez. 2018

TOLDRÁ, F.; NOLLET, L. M. L. Proteomics in Foods - Principles and Applications. Food Microbiology and Food Safety, v. 2, 2013.

TSERMOULA, P.; VIRGILI, C.; ORTEGA, R.; MULLEN, A.; ÁLVAREZ, C.; O'BRIEN, N.; O'FLAHERTY, E.; O'NEILL, E. Functional protein rich extracts from bovine and porcine hearts using acid or alkali solubilisation and isoelectric precipitation. *International Journal of Food Science & Technology*, [S.L.], v. 54, n. 4, p. 1292-1298, 17 dez. 2018.

WANG, L.; WANG, Y. J. Application of high-intensity ultrasound and surfactants in rice starch isolation. *Cereal Chemistry*, v. 81, n. 1, p. 140-144, jan./feb. 2004b.

Weege, K. A., Warmling, B. R., Souza, C. K., & Carvalho, L. F. (2017). Desenvolvimento e Características Nutricionais de Cookie de Canela com Adição de Bagaço de Malte Tipo Weizen. *Revista Processos Químicos*, 11(22), 35-40. <https://doi.org/10.19142/rpq.v11i22.404>