

# CARACTERIZAÇÃO CENTESIMAL E AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE PRÉ-TRATAMENTOS NA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DO BAGAÇO DE MALTE DE CERVEJA *PILSEN*

M.C. Vieira<sup>1</sup>, A. Brandelli<sup>1</sup>, B. Pontes<sup>1</sup>, R.C.S. Thys<sup>1</sup>

1- Departamento de Tecnologia dos Alimentos — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos — CEP: 91501-970 — Porto Alegre — RS — Brasil, Telefone: 55 (51) 3308-6684 — Fax: 55 (51) 3308-7048 — e-mail: (matheus07vieira@hotmail.com)

RESUMO – A produção de cerveja gera uma grande quantidade de resíduos sólidos, chamado bagaço de malte (BM). Esse subproduto é destinado em sua maior parte à ração animal, mas apresenta uma potencialidade nutricional devido à sua composição química, principalmente como fonte de proteínas. O objetivo desse estudo foi analisar a composição centesimal do BM de cerveja *Pilsen* e estudar a influência de pré-tratamentos térmico e com solvente no rendimento da extração proteica. O BM teve sua composição determinada quanto aos teores de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e carboidratos, sendo que os teores de proteínas (23,3%) e carboidratos (56,7%) foram seus constituintes majoritários em base seca. Para a extração proteica, avaliou-se quatro amostras: BM tratado termicamente (100 °C / 2 h) (BMTT), BM desengordurado (extração com hexano) (BMD), BM tratado termicamente e desengordurado (BMTTD) e o BM *in natura* (BMIN). Os resultados demonstraram que os maiores rendimentos de extração foram obtidos para as amostras BMIN (52,02%) e BMTT (52,83%), que não diferiram estatisticamente entre si. Dessa forma, foi possível concluir que os pré-tratamentos realizados para extração proteica do BM não são necessários, o que torna o processo de extração mais simples e econômico.

ABSTRACT – Beer production generates a large amount of solid waste, brewers' spent grain (BM). This byproduct is mostly intended for animal feed but has a nutritional potential due to its chemical composition, mainly as a protein source. The objective of this study was to analyze the centesimal composition of Pilsen BSG and to study the influence of thermal and solvent pretreatments on protein extraction yield. BM had its composition determined for moisture, protein, lipid, ash and carbohydrate contents, the protein (23.3%) and carbohydrate (56.7%) contents were its major constituents on dry basis. For protein extraction, four samples were evaluated: heat treated BSG (100 °C / 2 h) (BMTT), degreased BM (hexane extraction) (BMD), heat treated and degreased BM (BMTTD) and in natura BM (BMIN). It was observed the highest extraction yields in BMIN (52.02%) and BMTT (52.83%) that did not differ statistically from each other. Thus, it was concluded that it is not necessary to perform these pretreatments for BM protein extraction, optimizing this process and reducing operating costs.

PALAVRAS-CHAVE: reaproveitamento; resíduo cervejeiro; fonte proteica; tratamento térmico.

KEYWORDS: reuse; brewing waste; protein source; heat treatment.





# 1. INTRODUÇÃO

A cerveja, uma das bebidas mais consumidas no mundo, gera uma quantidade relevante de resíduos: a cada cem litros de cerveja produzida, são produzidos 20 kg do resíduo úmido, representando 85% do total de resíduo sólidos do processo cervejeiro (Mussatto, Dragone e Roberto, 2006). Esse processo tem duas etapas distintas, na primeira etapa de fabricação, denominada brassagem, obtêm-se duas frações: uma líquida (mosto) e uma sólida (bagaço de malte), a qual se caracteriza como resíduo.

De acordo com Roth *et al.* (2019), estima-se que a produção mundial anual de bagaço de malte (BM) é de aproximadamente 390 milhões de toneladas. O BM é um subproduto com alto teor proteico em sua composição (18-30% p/p), sendo essa variação dependente da matéria-prima, adjuntos e o processo de produção de cerveja utilizado pela indústria (Qin, Johansen e Mussatto, 2018). O teor proteico do BM é bem superior quando comparado ao de outros subprodutos e resíduos agroindustriais (Mussatto, Dragone e Roberto, 2006).

Apesar da grande disponibilidade do bagaço de malte, as pesquisas com esse subproduto ainda são muito limitadas. O aumento do conhecimento de suas características, bem como das propriedades funcionais e tecnológicas das proteínas que o compõem aumentaria muito sua aplicabilidade industrial e, portanto, é um objeto de pesquisa que requer maior investigação.

As proteínas são indispensáveis à saúde por serem fontes de aminoácidos essenciais ao organismo humano, além de possuírem uma extensa variedade de propriedades estruturais e funcionais, onde desempenham um papel de grande importância sobre o aspecto sensorial de produtos alimentícios (Yada, 2004). Com a intenção de manter suas propriedades nativas, diversas pesquisas estudam métodos de extração diferenciados para conciliar um bom rendimento de extração com a preservação das suas propriedades.

Diante desses fatores, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência de pré-tratamentos: tratamento térmico, tratamento com solvente (extração lipídica) e os dois pré-tratamentos combinados; na extração das proteínas do bagaço de malte descartado durante a produção de cerveja tipo *Pilsen*.

# 2. MATERIAL E MÉTODOS

## 2.1 Material

O bagaço de malte utilizado neste estudo foi doado por uma microcervejaria de Porto Alegre (RS), proveniente da fabricação de cerveja tipo *Pilsen*. O material foi mantido sob congelamento em recipiente vedado após a coleta no dia de produção da cerveja até serem feitas as análises.

## 2.2 Caracterização centesimal do bagaço de malte

O BM utilizado foi caracterizado quimicamente conforme os métodos da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000), sendo determinado os teores de umidade (AOAC 925.45b), lipídios (AOAC 920.39), proteínas (AOAC 960.52) e cinzas (AOAC 923.03); o conteúdo de carboidratos totais foi estimado por diferença. Para tanto, o material foi descongelado em temperatura de refrigeração por 24 horas.

# 2.2 Pré-tratamentos do bagaço de malte





Foram aplicados dois pré-tratamentos de forma individual (tratamento térmico e extração de lipídios com solvente) e combinados (tratamento térmico e posteriormente extração de lipídios com solvente). Além disso, avaliou-se a amostra *in natura* – que foi mantida congelada após a coleta.

O tratamento térmico (BMTT) foi realizado em estufa a 100 °C por 2 horas, espalhado em uma bandeja formando uma camada fina de 5 mm de altura. A amostra foi resfriada em temperatura ambiente, moída em moinho de facas e peneirada, sendo utilizado para análise o conteúdo retido na peneira com *tyler* 20. O BM desengordurado (BMD) foi obtido a partir do tratamento com solvente, conforme Wang *et al.* (1999), utilizando hexano na proporção 1:3 (BM:hexano) sob agitação em *shaker* (50 °C / 30 minutos); a fase orgânica foi removida por filtração em papel filtro qualitativo e o BM desengordurado foi mantido em temperatura ambiente para evaporação do solvente residual por 8 horas, após este tratamento, o material foi dividido em duas frações: a primeira foi congelada (BMD) e a segunda foi submetida ao mesmo tratamento térmico que o BMTT (BMTTD).

Todas as amostras foram armazenadas em recipiente vedado e mantido sob congelamento até serem realizadas as análises.

# 2.3 Extração proteica

A extração proteica seguiu o mesmo procedimento para as quatro amostras avaliadas: bagaço de malte com tratamento térmico (BMTT), bagaço de malte desengordurado (BMD), bagaço de malte com tratamento térmico e desengordurado (BMTTD) e bagaço de malte *in natura* (BMIN). Para isso, a partir de 50 g de amostra, utilizou-se uma solução alcalina de NaOH 0,05 M em uma proporção (1:5), conforme Modesti (2006). Essa mistura foi homogeneizada em *blender* por dois minutos e quantidade de proteína extraída em cada amostra foi quantificada pelo método de Biureto (Gornall, Bardawill e David, 1949).

Para o rendimento da extração, relacionou-se o teor de proteína quantificado na composição centesimal e a quantidade de proteína extraída em cada um dos tratamentos, conforme a Equação 1.

Rendimento (%) = 
$$\frac{Teor\ de\ proteína\ da\ amostra\ (mg/g)}{Teor\ de\ proteína\ extraída\ no\ tratamento\ (mg/g)}\ x\ 100 \tag{1}$$

#### 2.4 Análise estatística

As análises foram feitas em triplicata e os resultados submetidos à ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando o *Software SAS*.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Caracterização centesimal do bagaço de malte

O bagaço de malte utilizado foi coletado in natura com umidade de 76,8%, conforme apresentado na Tabela 1. Robertson et al. (2010) avaliaram o teor de umidade em BM provenientes de diferentes cervejarias e encontraram um teor de umidade entre 75 e 80%, comprovando esse como um teor médio de umidade nesse tipo de subproduto. A composição do BM varia de acordo com o tipo de matéria-prima utilizada, mas, de forma geral, é considerado um material lignocelulósico rico em proteínas e fibras – principalmente arabinoxilano, lignina e celulose – além de uma quantidade considerável de sílica e compostos fenólicos do grão de cevada (Roth, Jekle e Becker, 2019; Mussatto, Dragone e Roberto, 2006).





Outros materiais lignocelulósicos como aveia, arroz e trigo contém um teor proteico variando entre 3 e 5% sendo assim, inferior ao observado no BM (Mussatto, Dragone e Roberto, 2006; Theander e Aman, 1984). O teor de carboidratos elevado observado no BM era esperado, já que se trata de um subproduto obtido a partir de cerais com elevado teor de fibras e outros carboidratos não fibrosos (CNF) como a cevada que, conforme estudo realizado por Mayer et al. (2007), tem em média 60,4% de CNF e 22,1% de fibra total. A partir disso, observa-se que a quantidade de proteínas no BM estudado destaca-o como uma potencial fonte proteica vegetal.

Tabela 1 – Composição centesimal do bagaço de malte tipo Pilsen

Constituinte	Teor na amostra em base úmida (% p/p)	Teor na amostra em base seca (% p/p)
Umidade	$76.8 \pm 0.30$	-
Proteínas	$5,\!4\pm0,\!09$	$23,3\pm0,40$
Lipídios	$3,3\pm0,96$	$15,7 \pm 2,90$
Cinzas	$1,\!0\pm0,\!05$	$4,2 \pm 0,19$
Carboidratos*	13,5	56,7

Média ± desvio padrão de três repetições. \*Estimado por diferença (100%).

# 3.2 Pré-tratamentos do bagaço de malte

O rendimento da extração proteica com os diferentes pré-tratamentos e com a amostra *in natura* estão apresentados na Tabela 2, sendo que esses resultados refletem a melhor condição para extração de proteínas do BM. Foi observado que a maior quantidade de proteínas foi extraída na amostra tratada termicamente (BMTT) e na amostra sem tratamento (BMIN), sendo que não houve diferença significativa entre essas duas amostras.

Tabela 2 – Rendimento da extração de proteínas do bagaço de malte com e sem pré-tratamentos

Amostra	Quantidade de proteína extraída (mg/g)	Rendimento da extração (%)
BMIN	$121,17^a \pm 1,21$	52,02
BMTT	$123,07^{a} \pm 1,18$	52,83
BMD	$100,75^{\mathrm{b}} \pm 1,75$	43,26
BMTTD	$72,\!09^{\mathrm{c}} \pm 0,\!85$	30,94

Média  $\pm$  desvio padrão de três repetições. Letras iguais na mesma coluna indicam que não existe diferença estatística entre as amostras (p < 0,05).

BMIN: bagaço de malte *in natura;* BMTT: bagaço de malte tratado termicamente; BMD: bagaço de malte desengordurado; BMTTD: bagaço de malte tratado termicamente e desengordurado.

Qin, Johansen e Mussatto (2018) estudaram diferentes estratégias de pré-tratamento para extração de proteínas de BM incluindo tratamento alcalino, ácido, enzimático e hidrotérmico, e suas combinações. Os autores





concluíram que o tratamento hidrotérmico é uma opção interessante de pré-tratamento devido a seletividade do processo de extração e rendimento de aproximadamente 60%. Porém, apesar de ser um processo brando, com temperatura de 60 °C, é um tratamento de maior custo energético e maior intervalo de tempo entre a coleta e extração das proteínas do BM, o que pode causar alterações químicas e físicas no bagaço, como reações de oxidação lipídica. Outros estudos com diferentes subprodutos agroindustriais, aplicaram pré-tratamentos de maior complexidade, como sonificação de alta potência e tratamentos enzimáticos obtendo resultados promissores, porém com um custo de operação elevado em comparação com tratamentos térmicos, por exemplo (BIANJU et al., 2019; HAJHA et al., 2014; LIU et al., 2008).

A partir desses resultados, pode-se considerar que a utilização do BM na forma in natura é a ideal, dentre os tratamentos testados, por dois principais motivos. Primeiramente, elimina qualquer etapa prévia da extração, diminuindo o tempo necessário para extração e também custos com secagem e solvente para desengordurar as amostras. Além disso, partindo do ponto de vista científico, o emprego de temperatura acima de 50 °C para secagem do BM seria favorável à ocorrência da Reação de Maillard, já que há a presença de aminoácidos e carboidratos em abundância nesse tipo de material, sendo que poderia ocorrer também a desnaturação proteica promovendo a perda de propriedades funcionais e tecnológicas da mesma (Huang et al., 2019; Shibao e Bastos, 2011).

# 4. CONCLUSÃO

Com esse estudo foi possível caracterizar centesimalmente o bagaço de malte (BM) obtido a partir da produção de cerveja tipo *Pilsen* e comprovar seu potencial como fonte de proteínas, sendo que o conteúdo desse constituinte superior ao de outros subprodutos agropecuários. Além disso, os pré-tratamentos avaliados para no BM promoveram uma extração inferior ou igual ao BM *in natura*, confirmando que a extração das proteínas de forma direta seria a melhor condição para a amostra avaliada.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

# 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists 17° ed., Gaithersburg, 2000.

BYANJU, B.; RAHMAN, M.M.; HOJILLA-EVANGELISTA, M.P.; LAMSAL, B. P. Effect of high-power sonication pretreatment on extraction and some physicochemical properties of proteins from chickpea, kidney bean, and soybean. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019.

HUANG, G. Q.; WANG, H.O.; WANG, F. W.; DU, Y. L.; XIAO, J. X. Maillard reaction in protein – polysaccharide coacervated microcapsules and its effects on microcapsule properties. **International Journal of Biological Macromolecules.** https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.087, 2019.

LIU, J.; GUAN, X.; ZHU, D.; SUN, J. Optimization of the enzymatic pretreatment in oat bran protein extraction by particle swarm optimization algorithms for response surface modeling. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, p. 1913-1918, 2008.

MAYER, E. T.; FUKE, G.; NÖRNBERG, J. L.; MINELLA, E. Caracterização nutricional de grãos integrais e descascados de cultivares de cevada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1635-1640, 2007.





MODESTI, C. F. Obtenção e caracterização de concentrado proteico de folhas de mandioca submetido a diferentes tratamentos. Dissertação de mestrado. Lavras: UFLA, 2006.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. **Jornal of Cereal Science**, v. 43, p. 1-14, 2006.

QIN, F.; JOHANSEN, A. Z.; MUSSATTO, S. I. Evaluation of different pretreatment strategies for protein extraction from brewer's spent grains. **Industrial Crops & Products**, v. 125, p. 443-453, 2018.

RAJHA, H. N.; BOUSSETA, N.; LOUKA, N.; MAROUN, R. G.; VORABIEV, E. A comparative study of physical pretreatments for the extraction of polyphenols and proteins from vine shoots. **Food Research International**, v. 65, p. 462-468, 2014.

ROBERTSON, J. A.; I'ANSON, K. J. A.; TREIMO, J.; FAULDS, C. B.; BROCKLEHURST, T. F.; EIJSINK, V. G. H.; WALDRON, K. W. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 890-896, 2010.

ROTH, M.; JEKLE, M.; BECKER, T. Opportunities for upcycling cereal byproducts with special focus on Distiller's grains. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 282-293, 2019.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, 2011.

THEANDER, O.; AMAN, P. Anatomical and Chemical Characteristics. **Straws and Other Fibrous Byproducts as Feed**, p. 45-78, 1984.

WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURSK, W.; SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice brain protein isolate. **Jornal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 411-416, 1999.

YADA, R Y. Proteins in Food processing. Washington: Cambridge England, 2004.



