

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

ANA CAMILA SCHOSSLER BELUSSO

**AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO PROTEICO DO RESÍDUO ÚMIDO
CERVEJEIRO EM FRASCO DE FERNBACH POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO
SÓLIDO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Toledo

2018

ANA CAMILA SCHOSSLER BELUSSO

**AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO PROTEICO DO RESÍDUO ÚMIDO
CERVEJEIRO EM FRASCO DE FERNBACH POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO
SÓLIDO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado na disciplina de Trabalho de Conclusão de curso II, do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Coordenação de Processos Químicos – COPEQ – Da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Profa. Dra. Gracinda
Marina Castelo da Silva

Toledo

2018

**TERMO DE APROVAÇÃO
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Ana Camila Schossler Belusso

**AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO PROTEICO DO RESÍDUO ÚMIDO
CERVEJEIRO EM FRASCO DE FERNBACH POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO
SÓLIDO**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão do Curso do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, *Câmpus* Toledo, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

Profa. Dra. Gracinda Marina Castelo da Silva / UTFPR *Câmpus* Toledo

Profa. Dra. Karina Graziella Fiameti Colombo / UTFPR *Câmpus* Toledo

Profa. Dra. Ana Maria Velez Escallon / UTFPR *Câmpus* Toledo

Toledo
2018

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

RESUMO

BELUSSO, Ana Camila Schossler. **Avaliação do enriquecimento proteico do resíduo úmido cervejeiro em frasco de Fernbach por fermentação em estado sólido**. 2018. 37f. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Tecnologia Federal do Paraná, Toledo, 2018.

Pelo volume de resíduos gerados nos processos produtivos em indústrias busca-se alternativas para transformar este resíduo em um subproduto de interesse comercial e assim reduzir os gastos gerados no tratamento e deposição destes, ocasionado em uma redução drástica dos custos nas indústrias e agregando valor ao resíduo. O bagaço de malte é um resíduo gerado em grandes proporções, sendo de 14 a 20 kg a cada 100 litros de cerveja produzida. Este resíduo apresenta uma grande capacidade nutritiva e vem sendo utilizado na alimentação de animais ruminantes. O objetivo deste trabalho visa torná-lo ainda mais atrativo aumentando o seu teor proteico por meio da fermentação em estado sólido utilizando o microorganismo *Saccharomyces cerevisiae* cepa: AJL 3188, lote: 3188188. A composição determinada por caracterização nutricional do resíduo úmido cervejeiro foi de 83,05 % de umidade residual, 18,23 % de matéria seca, 3,79 % de proteína bruta, 0,71 % de matéria mineral, 11,58 % de carboidratos e de lipídios 0,87 %. Neste trabalho, para fermentação em estado sólido utilizou-se de frascos de Fernbach com capacidade de 2800 mL. Foram utilizados 500 g do resíduo úmido cervejeiro em duas granulometrias: 0,589 mm e 1,168mm, variando a concentração do inóculo em $4,5 \times 10^{10}$ UFC e $9,0 \times 10^{10}$ UFC. A variação do teor proteico obtido foi de 5,02% e 5,50% sendo que o menor ganho proteico é atribuído a maior concentração do inóculo ($9,0 \times 10^{10}$ UFC) e maior granulometria (1,168 mm) e o maior ganho relaciona-se com a menor concentração do inóculo ($4,5 \times 10^{10}$ UFC) e menor tamanho de partícula (0,589 mm). Dentre as condições avaliadas a que obteve o melhor resultado tanto para o aumento proteico como também para redução no teor de umidade foram as amostras com menor granulometria (0,589 mm) e menor concentração de inóculo. O enriquecimento proteico é uma alternativa viável e eficiente para redução de custos com tratamento do resíduo da indústria cervejeira, geração de renda extra e contribuição com o setor pecuário.

Palavras chave: Resíduos agroindustriais; bagaço de malte; levedura; substratos;

ABSTRACT

BELUSSO, Ana Camila Schossler. **Evaluation of the protein enrichment of the wet brewing residue in Fernbach flask by solid state fermentation.** 2018. 37f. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Tecnologia Federal do Paraná, Toledo, 2018.

Due to great volume of residues generated in the productive process of breweries, it is necessary to seek for alternatives to turn the residue in a by-product that is commercially interesting, consequently lowering the costs generated for treatment and final deposition. Malt bagasse is a large generated residue, with 14 to 20 kg per 100 liters of produced product. This residue presents high nutritional capacity and is being used to feed ruminant animals. This study aims to make this residue even more attractive in nutritional characteristics through the increase in the protein content using solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. The nutritional composition determined by characterization of the wet brewing residue presented 83.05% of residual moisture, 18.23% of dry matter, 3.79% of crude protein, 0.71% of mineral matter, 11.58% of carbohydrate and 0.87% of lipids. In this study, Fernbach flasks with 2800 mL of capacity were used for solid state fermentation. The amount of by-product used for the study was 500 g, two granulometries were evaluated: 0.589 mm and 1.168 mm and two inoculum concentration: $4,5 \times 10^{10}$ and $9,0 \times 10^{10}$. The lowest protein content obtained was 5.02% and the highest was 5.50%. The lowest increase in the protein content was attributed to the highest inoculum concentration ($9,0 \times 10^{10}$) and higher granulometry (1,168 mm) as the higher increase in the protein content was related to the lowest inoculum concentration ($4,5 \times 10^{10}$) and lower particle size (0,589 mm). The protein enrichment is a viable and efficient alternative to reduce costs with brewery residue treatment, generating extra profit and contributing with the livestock sector.

Key-words: Agroindustrial residue; malt bagasse; yeast; substrate

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Etapas Genéricas do Processo de Produção de Cerveja	6
FIGURA 2 – Grãos de Cevada	7
FIGURA 3 – Bagaço de Malte.	7
FIGURA 4 – Fluxograma representativo do preparo do cultivo	23
FIGURA 5 – Teor de proteína bruta em relação ao tempo.	30
FIGURA 6 – Teor de umidade em relação ao tempo.	31

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Composição físico-química do bagaço de malte em base úmida	18
TABELA 2 – Caracterização do resíduo cervejeiro úmido <i>in natura</i>	25
TABELA 3 – Caracterização do levedo cervejeiro	25
TABELA 4 – Resultados do teor de proteína (P.B) e umidade (U.) pelo enriquecimento proteico através da fermentação em estado sólido em diferentes concentrações de inóculo e de granulometria do substrato.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

Fc Fator de correção do ácido

FES Fermentação em estado sólido

LI Lipídeos (%)

Ma Massa da amostra

Mf Massa final (g)

Mi Massa inicial (g)

MM Matéria Mineral

MS Matéria seca

N Número de gramas de umidade, lipídeos e cinzas (g)

Na Normalidade do ácido

P Número de gramas da amostra inicial (g)

PB Proteína Bruta

RPM Rotações por minuto

U Umidade (%)

V Volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
1.1 OBJETIVOS.....	11
1.1.1 Geral.....	11
1.1.2 Específico.....	11
1.2 JUSTIFICATIVA.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 PRODUÇÃO DE CERVEJA.....	13
2.2 BAGAÇO DE MALTE.....	15
2.3 FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO.....	17
2.4 LEVEDURA – <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18
3 MÉTODOS.....	20
3.1 SUBSTRATO.....	20
3.2 GRANULOMETRIA.....	20
3.3 INÓCULO.....	20
3.4 CULTIVO.....	21
3.5 CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL.....	22
3.5.1 Teor de Umidade.....	22
3.5.2 Lipídios Totais.....	22
3.5.3 Matéria Mineral.....	23
3.5.4 Proteína Bruta.....	23
3.5.5 Carboidratos.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
4.1 CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL DO BAGAÇO DE MALTE IN NATURA..	25
4.1 ENRIQUECIMENTO PROTEICO.....	26
5 CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

Dentre os grandes produtores de resíduos destacam-se como principais poluidoras as indústrias do ramo alimentício, devido ao grande volume de resíduo gerado nos processos produtivos. Diversos estudos têm sido realizados para reverter o quadro com o intuito de transformar o resíduo em um subproduto com valor econômico agregado como o estudo realizado por Pontes (2009) em que o autor estuda a viabilidade do enriquecimento proteico do bagaço de caju, assim como Canedo (2015) avaliou o enriquecimento proteico do bagaço de malte. O grande volume de resíduos industriais gerados não é totalmente explorado, ocasionado em consideráveis gastos referentes aos tratamentos específicos para então serem descartados sem prejuízo ao meio ambiente (PELIZER; PONTIERI; MORAES, 2007).

Com o decorrer dos anos, os subprodutos agroindustriais ganharam um grande destaque por ser uma alternativa resultante na diminuição da poluição. Contudo, muitos subprodutos precisam passar por um processo de melhoramento, que visa torná-los aptos para a aplicação e aproveitamento (OLIVEIRA et. al., 2011).

O bagaço de malte é um resíduo gerado em grande escala na produção de cerveja, o qual possui um valor nutricional significativo e atualmente é muito utilizado como ração na alimentação de animais ruminantes, contudo, não ficam restritos somente a este tipo de animal, muitos estudos apontam a importância deste subproduto como fonte de nutrientes para peixes (PINTO et. al, 2005).

Nas cervejarias, o bagaço de malte é gerado no início do processo produtivo, onde se inicia com a moagem do malte juntamente com adjuntos, posteriormente é fervido e filtrado. Após o processo de filtração, este não possui mais importância para a indústria cervejeira, sendo somente considerado um resíduo industrial (bagaço de malte) que muitas vezes é comercializado com um baixo valor econômico para alimentação de animais podendo custar até 200 reais a tonelada (SANTOS; RIBEIRO, 2005).

O bagaço de malte apesar de apresentar um valor nutricional que o torna de interesse econômico, este possui um alto teor de umidade o que o torna difícil de transportar além da sua baixa conservação, inviabilizando o armazenamento de grandes quantidades. A fermentação em estado sólido do bagaço de malte visa aumentar o teor proteico e conseqüentemente diminuir o percentual de umidade presente (PRIEST; STEWART, 2006).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo geral

A fermentação em estado sólido do resíduo úmido cervejeiro, busca-se avaliar o enriquecimento proteico deste quando submetido à fermentação com levedo cervejeiro (*Saccharomyces cerevisiae*) em diferentes concentrações e o seu comportamento quando submetido a uma variação granulométrica do bagaço de malte. A fermentação será realizada utilizando frascos de Fernbach, com a finalidade de avaliar a fermentação em grande escala e assim determinar qual a concentração de levedura em relação à condição granulométrica do substrato que garante um maior enriquecimento deste subproduto.

1.1.2. Objetivos específicos

- Caracterização amostra do bagaço de malte e da levedura;
- Obter diferentes granulometrias do bagaço de malte através da fragmentação;
- Avaliar o enriquecimento proteico pela fermentação em estado sólido variando as concentrações de levedura e de granulométrica do bagaço de malte;
- Estudar a cinética do processo de fermentação em estado sólido do bagaço de malte avaliando a proteína e a umidade no meio de cultura.

1.2 JUSTIFICATIVA

Devido ao volume de resíduos gerados no processo de fabricação de cerveja nota-se a importância do reaproveitamento, visto que muitas vezes os resíduos industriais não possuem uma aplicação tornando-se necessária a adição de um processo de tratamento para o correto descarte. A produção mundial de resíduos cervejeiros anual é estimada com aproximadamente 30 milhões de toneladas e no Brasil, o saldo é aproximado a 1,7 milhões de toneladas por ano (MUSSATO, 2006).

O bagaço de malte é um resíduo sólido gerado na etapa de filtração do mosto, o qual é constituído de cascas e polpas dos grãos. Este resíduo é considerado como um subproduto agroindustrial, com aplicação fortemente destinada para a alimentação animal devido a sua carga nutricional.

Além do bagaço de malte, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* utilizada no processo fermentativo na produção de cervejas também é um resíduo gerado em grandes proporções nas indústrias cervejeiras. Estas são responsáveis pela destinação final deste resíduo, o qual é descartado em toneladas e para isso, tem-se a geração de um custo adicional a indústria.

O desenvolvimento deste trabalho tem como intuito aprimorar o valor nutricional do bagaço de malte pelo enriquecimento proteico utilizando o processo fermentativo em estado sólido, desta forma, este subproduto que já é muito utilizado na alimentação animal, proporcionará uma alimentação com valores nutricionais mais elevados, agregando valor econômico ao subproduto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUÇÃO DE CERVEJA

A produção de cerveja foi iniciada juntamente com a urbanização e civilização no período neolítico, sendo este um produto fortemente comercializado devido a suas características físicas e qualidades químicas. A cerveja possui envolvimento na tradição de inúmeras nações (CASTRO, 2014).

O surgimento das primeiras indústrias cervejeiras no Brasil se deu na cidade de Recife, no nordeste brasileiro no ano de 1637 com a chegada de Maurício Nassau que juntamente com o cervejeiro Dirck Dixx deram início a produções (CASTRO, 2014).

Dentre os principais ingredientes para a obtenção da cerveja destacam-se a cevada maltada, que oferece fonte de carboidratos, proteínas, minerais, etc., o lúpulo que é responsável pelo amargor da cerveja e a água do processo de obtenção do mosto cervejeiro. Exceto na Alemanha, todos os outros países aceitam a adição de adjuntos, que muitas vezes podem substituir parte da cevada maltada, caramelo como corante entre outros, estes são responsáveis pela alteração nas características físicas e químicas da cerveja. Todos os ingredientes e adjuntos utilizados no processo produtivo devem ser de qualidade conhecida, uma vez que a qualidade do produto final está diretamente ligada à qualidade das matérias-primas utilizadas (DRAGONE; SILVA, 2010).

A cerveja é obtida pelo processo fermentativo do malte por meio da germinação da cevada. Os açúcares presentes nos grãos de malte são convertidos em álcool pela metabolização do substrato por leveduras. Desta forma, o processo produtivo de cerveja baseia-se na ação de micro-organismos, sendo a principal espécie a *Saccharomyces cerevisiae* (EVANGELISTA, 2015).

As principais etapas envolvidas na produção de cerveja estão representadas no fluxograma (Figura 1) a seguir.

Figura 1: Etapas Genéricas do Processo de Produção de Cerveja



Fonte: Autor

Pela Figura 1, as etapas de produção em uma cervejaria seguem pela obtenção do malte, o qual passa por tratamento de moagem para o rompimento das cascas dos grãos, fazendo com que o seu conteúdo seja exposto, disponibilizando desta forma as proteínas e o amido presente nos grãos de malte. Entretanto, essas substâncias possuem baixa solubilidade, tornando necessária a adição da etapa de maceração, possibilitando a ação enzimática. Quando em condições favoráveis de temperatura e pH as enzimas presentes nos grãos promovem a quebra de substâncias complexas e insolúveis em compostos de menor peso molecular, solúveis em água, tornando possível a metabolização dos açúcares pela levedura (SOUSA, 2017).

Posteriormente, tem-se a preparação do mosto e após o preparo o mesmo passa por resfriamento em trocadores de calor e filtração para remoção de qualquer resíduo presente no malte ou adjunto. No processo de filtração, o malte é o elemento filtrante devido à formação de uma torta porosa decorrente da deposição de fragmentos dos grãos na peneira do filtro (SOUSA, 2017).

Eleva-se a temperatura até 100°C de forma a inativar as enzimas, coagular, precipitar as proteínas, esterilizar e ainda concentrar através da evaporação. São adicionados nesta etapa os adjuntos responsáveis pelas características organolépticas da cerveja, sendo o lúpulo, caramelo, açúcar, etc. Em seguida, é realizada a clarificação do mosto pelo processo de filtração, de forma a reter qualquer resíduo sólido que possa comprometer o processo fermentativo (FILHO, 2010).

O processo segue com a fermentação, inicialmente aeróbio onde há fornecimento de oxigênio e reprodução das leveduras. Após a etapa de multiplicação, a entrada de oxigênio é cessada e então as leveduras iniciam o processo fermentativo no qual usam como nutriente os açúcares presentes no meio e o produto formado é o etanol e dióxido de carbono. O processo fermentativo dura entre 6 a 9 dias, durante este processo é necessário realizar controle de temperatura, devido à grande liberação de energia em forma de calor (FILHO, 2010).

Após as características desejadas serem obtidas, ocorre uma redução na temperatura fazendo com que o processo fermentativo seja interrompido e inicia-se a maturação que pode durar até 60 dias. Nesta etapa, ocorre a separação dos levedos da cerveja além de reações químicas que contribuem para a estabilização da cerveja (DRAGONE; MUSSATO; SILVA, 2007).

A próxima etapa do processo consiste na filtração da cerveja, o qual tem o intuito de remover qualquer impureza presente que possam contribuir para turbidez do produto. Esta filtração é realizada com matérias de alta porosidade que otimiza a remoção de impurezas e

então adiciona-se os agentes estabilizantes ou adjuntos que contribuem para um melhoramento do produto final (DRAGONE; MUSSATO; SILVA, 2007).

Em seguida, tem-se a injeção de CO₂ e armazenamento em tanques de pressão, onde é mantida sob condições controladas de temperatura e pressão até que ocorra o envase da mesma, sendo esta a última etapa do processo produtivo de cerveja (DRAGONE; MUSSATO; SILVA, 2007).

2.2 BAGAÇO DE MALTE

O malte é um dos ingredientes básicos para a produção de cerveja, este é obtido a partir de grãos de cevada (Figura 2) o qual é rico em amido e proteínas, que basicamente é constituído por três partes: casca externa, um endosperma amiláceo e o germe (embrião). A casca é responsável pela proteção externa para o grão e é constituída por material celulósico, contendo proteínas, resinas e tanino em pequenas quantidades (VENTURINI; CEREDA, 2001).

Figura 2: Grãos de Cevada.



Fonte: BALSÍ, 2011.

A cevada quando submetida a condições favoráveis de temperatura, aeração e umidade sofrem germinação. Neste processo, tem-se a produção de enzimas decorrente da indução do metabolismo, formando enzimas como α -amilases, as β -glucanases e também peptidases, que atuam nas proteínas e polissacarídeos, que ajudarão no processo fermentativo (VENTURINI; CEREDA, 2001).

O bagaço de malte (Figura 3) é um subproduto gerado no processo produtivo das cervejarias, sendo um sólido obtido na filtração do mosto cervejeiro anterior à etapa de fervura. Sua composição baseia-se em restos de cascas e polpa de malte, como também dos grãos dos adjuntos, como arroz, milho e trigo. O bagaço de malte é o principal subproduto

gerado nas cervejarias, sendo que sua produtividade é de 14 a 20 kg a cada 100 litros de cerveja produzida (SANTOS; RIBEIRO, 2005).

Figura 3: Bagaço de Malte.



Fonte: DRAGONE, 2007.

O bagaço de malte é composto predominantemente de fibras, sendo de aproximadamente 70% da sua composição em base seca e de proteínas que varia na composição de 15 a 25% e também é constituído por lipídios, minerais, vitaminas, aminoácidos e compostos fenólicos (ROBERTSON *et al.* 2010).

Na Tabela 1 estão representados os resultados obtidos na caracterização nutricional pela autora Cordeiro (2011), o qual é possível avaliar quais são os compostos predominantes neste subproduto, destacando-se o alto teor de umidade, carboidratos, proteínas e fibras.

Tabela 1 – Composição físico-química do bagaço de malte em base úmida.

Análises	Resultados g.100g ⁻¹
Umidade	75,45
Minerais Totais	1,29
Carboidratos	15,46
Proteínas Totais	5,37
Gorduras Totais	2,43
Fibra Bruta	3,98

Fonte: Luana Gomes Cordeiro, 2012.

O bagaço de malte já vem sendo reaproveitado para diversas aplicações devido as suas características, sendo principalmente destinado para a alimentação e nutrição de animais

ruminantes, como também é destinado para a alimentação humana, produção de energia por queima direta, produção de biogás por meio de fermentação anaeróbica, produção de carvão vegetal, material adsorvente em tratamentos químicos entre outras diversas aplicações apontadas em estudos nos últimos anos (ALIYU; BALA, 2011).

A proteína é um dos nutrientes mais essenciais na dieta de animais ruminantes, segundo Minson (1990) a ingestão mínima de PB para este animal é de 7%, sendo assim, a ingestão de quantidades inferiores a está podem prejudicar os microorganismos ruminais e diminuir a degradabilidade das porções fibrosas da dieta (VALADARES, 2001).

Sendo assim, a suplementação protéica na dieta de animais ruminantes é uma alternativa que possibilita a correção de dietas desbalanceadas e desta forma, proporciona o ganho de peso e a conversão alimentar (PERUCHENA, 1999).

2.3 FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

Decorrente do grande aumento de indústrias e também com o impulsionamento da produção no decorrer dos anos, teve-se como consequência um grande aumento no volume de resíduos, sendo eles sólidos ou líquidos. Os resíduos industriais sólidos geram um grande problema para as indústrias que necessitam tratá-los e destiná-los para deposição final devido ao grande volume ocupado. Com o aumento da conscientização ecológica, e também a intenção de redução do custo no processo produtivo, muitos resíduos que antes eram tratados e descartados hoje são considerados subprodutos que muitas vezes são utilizados nas próprias indústrias ou até mesmo, comercializados, principalmente como subproduto agroindustrial (SILVA *et al.*, 2017).

Contudo, muitos resíduos precisam passar por um processo para torná-lo adequado para determinada aplicação para qual foi destinado, ou ainda, pode-se adicionar um processo de tratamento com o intuito de fazer um melhoramento no subproduto e agregar valor econômico ao mesmo (PELIZER, 2007).

Para o reaproveitamento de resíduos sólidos, muitas vezes emprega-se o processo de fermentação em estado sólido (FSS) que pelo crescimento microbiano tem-se a síntese de inúmeros compostos, dos quais muitos apresentam grande interesse para segmentos industriais, melhora a aplicação e ainda agregar valor ao subproduto (SILVA, *et al.*, 2014) .

Uma das principais aplicações da fermentação em estado sólido é para o enriquecimento proteico de resíduos agroindustriais, de forma que microrganismos são utilizados para elevar

o valor proteico e então, destiná-los para alimentação animal ou até mesmo para alimentação humana com um valor nutricional elevado (ARAUJO *et. al.*, 2017).

Durante a fermentação em um substrato sólido tem-se a necessidade de controlar as variáveis do processo, como a temperatura, parâmetro este que interfere diretamente no crescimento, metabolismo e capacidade fermentativa do microorganismo, também é necessário ter controle do pH e como também do extrato, que é nutriente consumido pelo microorganismo no processo fermentativo (ARAUJO *et. al.*, 2017).

A temperatura é uma variável de grande impacto no meio fermentativo, temperaturas elevadas aumentam a velocidade de fermentação, contudo, pode impactar em desnaturação protéica, reduções drásticas na umidade do meio ocasionando em morte da levedura. De acordo com Hottinger (1987) a temperatura do meio quando trabalhado com *Saccharomyces cerevisiae* não deve ser inferior a 27°C ou superior a 40°C.

No estudo realizado por Campos *et al.*, (2005) o autor avalia o enriquecimento proteico por fermentação em estado sólido do bagaço do pendúnculo de caju utilizando 12 % de concentração da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na temperatura de 33 °C. Após o tempo de 28 horas, houve um aumento máximo no teor proteico de 3,0 vezes quando comparado a amostra *in natura*.

Araujo *et al.* (2007) tiveram como objetivo avaliar o enriquecimento proteico por fermentação semissólida do Mandacaru sem espinhos. Em bandejas retangulares foram adicionados 300 g de substrato e o microorganismo empregado na fermentação foi a *Saccharomyces cerevisiae* com a temperatura do processo de 38°C. O autor obteve um aumento de 3,29 e 3,89 vezes em relação à amostra *in natura* após 48 horas de fermentação

Oliveira (2007) avaliou o enriquecimento proteico de três resíduos agroindustriais gerados em grandes proporções no Brasil, sendo a coroa e a casca do abacaxi e casca do maracujá. O autor utilizou uma bandeja retangular com 500 g de substrato, utilizado na fermentação a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na concentração de 1, 3 e 5 % e a condução do experimento foi nas temperaturas de 30, 34 e 38 °C. O aumento no teor proteico destes três resíduos foi quantificado em 2,40 vezes em relação as amostras *in natura*.

A granulometria do substrato empregado na fermentação também é de grande influencia para um bom rendimento. É necessário que a granulometria da amostra tenha o tamanho ideal para a fermentação, o qual deve ser obtido à melhor área de contato sem prejudicar a circulação de ar por entre a massa e a dissipação de gases e calor produzido, de forma que uma condução deste processo pode intervir no rendimento.

Coelho *et al.* (2001) teve por objetivo avaliar o aumento no teor proteico a partir da casca de coco verde por fermentação semi-sólida em diferentes granulometrias, sendo de 1,19 mm, 0,59 mm e <0,50 mm. Neste estudo, houve o maior ganho proteico nas menores granulometrias, sendo que com 0,50 mm foi à melhor condição para o rendimento no aumento proteico, seguido da condição de 0,59 mm.

Vendruscolo *et al.* (2007) avaliou por meio de fermentação em estado sólido o enriquecimento proteico do bagaço de maçã em diferentes granulometrias com variação de 0,85 a 1,70 mm e utilizando o fungo filamentoso *Gongronella butleri*. Neste estudo, o autor obteve um aumento no teor proteico de 2,5 vezes em relação à amostra *in natura*, demonstrando desta forma um bom rendimento.

2.4 LEVEDURA - *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é um fungo unicelular o qual é muito utilizado na fabricação de alimentos, principalmente na produção de etanol. Possui uma alta eficiência em processos fermentativos, crescimento acelerado e um alto poder na metabolização de açúcares. Além de não apresentar ações patogênicas ao homem e aos animais (REIS, 2011).

As leveduras *S. cerevisiae* vem sendo muito utilizadas no enriquecimento proteico de diversos resíduos agroindustriais, pois é de fácil propagação e é capaz de suportar condições mais drásticas do meio. Para um bom desempenho neste processo faz-se necessário controlar algumas variáveis como a temperatura, umidade e ainda, fornecer os nutrientes necessários para sua propagação (OLIVEIRA, 2007).

Os autores Lima *et al* (2017) estudou o enriquecimento proteico do bagaço de laranja com a levedura *S. cerevisiae*, além deste estudo, Araújo *et al* (2017) também estudaram o enriquecimento da casca de mandioca. Estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de melhoramento dos subprodutos gerados nos processos produtivos de grandes e pequenas indústrias e muitos destes estudos utilizam esta levedura devido às condições favoráveis de trabalho e resultados satisfatórios (PARK; RAMIREZ, 1989).

É considerada fonte de proteínas, sua composição dos nutrientes pode variar de acordo com as linhagens dentre a espécie de *Saccharomyces cerevisiae*, sendo assim, faz-se necessário selecionar a mais adequada para o processo que será empregada. Devido ao poder nutritivo e composição química vem sendo muito utilizada como complemento na alimentação de homens e animais o qual também promove o reequilíbrio da flora intestinal (OLIVEIRA, 2007).

3 MÉTODOS

Todas as análises experimentais foram realizadas nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *câmpus* Toledo.

3.1 SUBSTRATO

O bagaço de malte foi cedido por uma indústria cervejeira da região Oeste do Paraná – Brasil. O resíduo adquirido foi armazenado em embalagens plásticas submetidas a vácuo e congeladas em freezer com temperatura de $-5\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Anteriormente a utilização, as amostras foram descongeladas em temperatura ambiente por 24 horas e homogeneizada manualmente (MENEZES, 2010).

3.2 GRANULOMETRIA

Para a caracterização granulométrica das partículas do bagaço de malte utilizou-se uma máquina vibratória do modelo T e um conjunto de peneiras da série Tyler “A” com variação das malhas de 6 mesh (3,35 mm), 8 mesh (2,36 mm), 14 mesh (1,18 mm), 28 mesh (600 μm) e 35 mesh (425 μm) As condições empregadas no peneiramento foram propostas por Jordan *et al* (2016), sendo a posição oito do potenciômetro da plataforma vibratória e com tempo de duração de 10 minutos.

3.3 INÓCULO

Para o enriquecimento proteico foi utilizada a levedura secundária *Saccharomyces cerevisiae* cedida pela mesma indústria cervejeira localizada na região Oeste do Paraná – Brasil, cepa: AJL 3188, lote: 3188188.

A partir da levedura semissólida adquirida foi realizado o inóculo inicial em extrato de malte e quinzenalmente, realizado o repique.

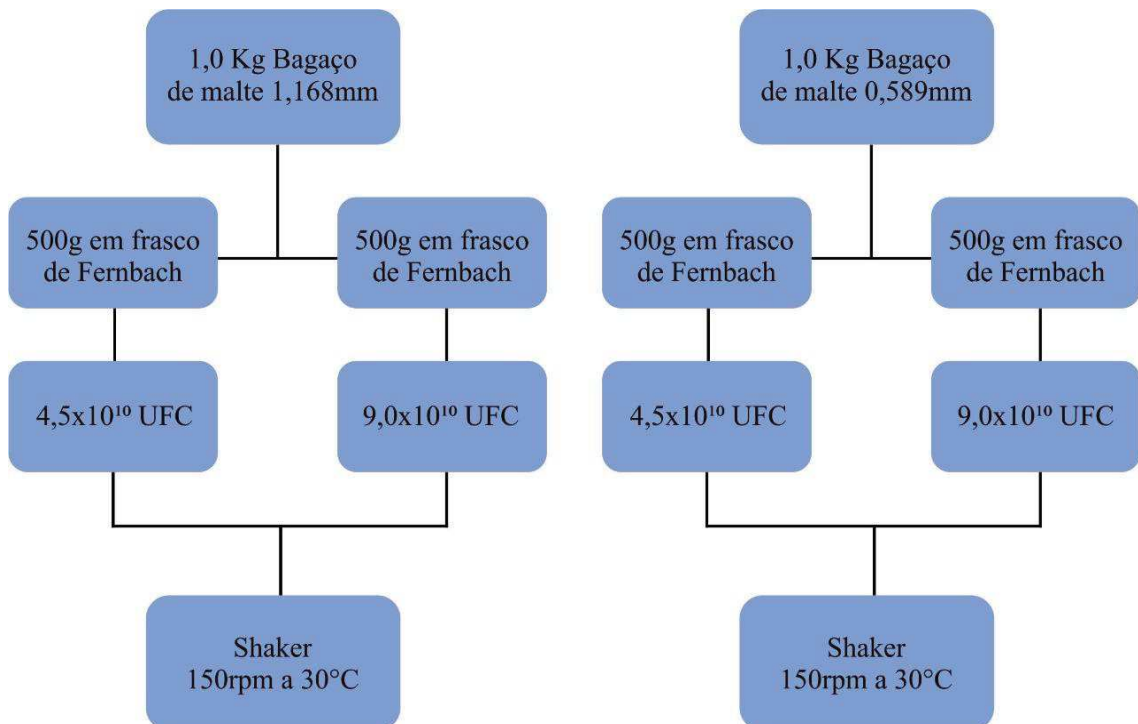
Para a padronização do inóculo utilizado na fermentação realizou-se o repique em ágar extrato de malte, posteriormente incubado em estufa a 28°C com circulação de ar. Após 72 horas, período de crescimento em fase exponencial, foi retirado da estufa e inoculado em salina na concentração de 15×10^8 UFC/mL utilizando a escala número 5 de McFarland (McFARLAND, 1907).

3.4 CULTIVO

O processo fermentativo foi realizado a partir de duas alíquotas de 1,0 kg sendo a primeira submetida ao processo de trituração em liquidificador, o qual foi obtido granulometria de 0,589 mm e a segunda alíquota sem passar por qualquer processamento, sendo esta, *in natura* com granulometria de 1,168 mm.

Em seguida, realizou-se o fracionamento de 500 g para 4 frascos de Fernbach. Dois dos frascos contendo 500g do bagaço processado e os outros dois contendo o bagaço *in natura*. Os frascos contendo o bagaço foram esterilizados em autoclave a 121°C. Com o intuito de avaliar a melhor condição granulométrica e o impacto da concentração do inóculo, adicionou-se, para cada 500 g de amostra processada e 500 g de amostra *in natura* $4,5 \times 10^{10}$ UFC e nos outros dois frascos adicionou-se o inóculo de $9,0 \times 10^{10}$ UFC, conforme representado no fluxograma da Figura 4 a seguir. As amostras foram submetidas a agitação constante de 150 rpm com temperatura controlada em 30°C. Durante o processo fermentativo, foram realizadas coletas de alíquotas nos tempos 0h, 10h, 24h, 48h, 72h. O experimento foi conduzido em duplicata.

Figura 4: Fluxograma representativo do preparo do cultivo.



Fonte: Autor, 2018.

3.5 CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL

A caracterização das amostras do bagaço de malte foi realizada em nível de valores nutricionais. Empregou-se as análises físico-químicas para determinação do teor de umidade, lipídios totais, proteína bruta e carboidratos.

3.5.1 Teor de Umidade

Foi determinado o teor de umidade utilizando o método do Instituto Adolfo Lutz, (2008). Em uma placa dessecada pesou-se 1,0 g da amostra e em seguida submetida a aquecimento em estufa com circulação e renovação de ar em 105°C por 24 horas e na sequência resfriada em dessecador até peso constante.

Para o cálculo do teor de umidade, utilizou-se a Equação (1) a seguir:

$$U = \frac{N}{P} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: U: Porcentagem de umidade; N: nº de gramas de umidade (diferença da massa inicial e final em g) e P: Peso inicial da amostra.

3.5.2 Lipídios Totais

Para determinar os lipídios foi utilizado o método Soxhlet, que consiste na extração da gordura utilizando o extrator de óleos e graxas com aquecimento de solvente orgânico éter de petróleo. Para calcular a porcentagem de lipídios presente na amostra, utilizou-se a Equação (2) a seguir:

$$LI = \frac{N}{P} \cdot 100 \quad (2)$$

Onde: LI: Porcentagem de lipídios; N: Massa de lipídios (g) e P: Massa inicial da amostra (g) (CECCHI, 2003).

3.5.3 Matéria Mineral

Para quantificação de matéria mineral utilizou-se a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Em um cadinho previamente dessecado foi pesado 5 g da amostra o qual posteriormente foi incinerado em forno mufla por 4 horas a 550°C. Após o tempo de incineração o cadinho contendo a amostra foi colocado em dessecador para resfriamento em temperatura ambiente até peso constante e as cinzas em porcentagens foram determinadas utilizando a Equação 3.

$$MM = \frac{N}{P} \cdot 100 \quad (3)$$

Onde: MM: Porcentagem matéria mineral; N: Massa de cinzas (g) e P: Massa inicial da amostra.

3.5.4 Proteína Bruta Bagaço de Malte

A análise foi conduzida de acordo com o método Kjeldahl, proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Este método consiste na determinação de nitrogênio presente na amostra e a partir desta, utiliza-se um fator de conversão para então, determinar a porcentagem de proteínas. Para determinação da proteína, tem-se uma sequência de três etapas, sendo a digestão, destilação e titulação.

Em um papel filtro pesou-se 0,5000 g de amostra e 2,0000 g da solução catalítica (sulfato de sódio e sulfato de cobre) e a mistura foi inserida em um tubo digestor e adicionou-se 10 mL de ácido sulfúrico no mesmo tubo. Desta forma, para realizar a digestão da amostra a mesma foi mantida em um bloco digestor na temperatura de 400 °C até a completa digestão.

A destilação foi realizada com o destilador de nitrogênio, com o uso de hidróxido de sódio 30% para neutralizar a amostra digerida e ácido bórico 0,033 M para receber o destilado.

A última etapa é a de titulação, realizada para determinar a quantidade de nitrogênio presente na amostra onde se utilizou o ácido sulfúrico 0,05 M como titulante. Para quantificar as proteínas na amostra foi utilizado um fator de conversão (6,25) multiplicado ao teor de nitrogênio. Para determinar o percentual de proteínas foi aplicada a Equação 4.

$$PB = \frac{Vg \cdot Fc \cdot 0,14 \cdot 6,25 \cdot 100}{Ma} \quad (4)$$

Onde: PB: Porcentagem de proteína bruta; Vg: Volume de H₂SO₄ 0,05M gasto na titulação; Fc: Fator de correção; 6,25: Fator de conversão de Nitrogênio para Proteínas; Ma: Peso da amostra.

3.5.4 Proteína Bruta *Saccharomyces cerevisiae*

A análise foi conduzida de acordo com o método Kjeldahl descrita no item 3.5.4, a amostragem pesada para determinação foi em sua forma pastosa, ou seja, úmida.

Para quantificar as proteínas na amostra foi aplicada a equação 4 apresentada no item 3.5.4.

3.5.5 Carboidratos

Para determinação de carboidratos foi utilizado o método de Silva e Queiroz (2002). Que consiste na quantificação por diferença através da Equação 5.

$$CT = 100 - (\%U + \%PB + \%LI + \%MM) \quad (5)$$

Onde: CT: Carboidratos totais; %U: Porcentagem de umidade; %PB: Porcentagem de proteína bruta; %LI: Porcentagem de lipídios e %MM: Porcentagem de matéria material.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL DO BAGAÇO DE MALTE *IN NATURA* E DA LEVEDURA *Saccharomyces cerevisiae*

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados da caracterização nutricional do bagaço de malte *in natura* e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* obtidos neste trabalho em comparação a outros autores (Ehrenbrienk (2016), Bourscheidt (2011) e Cordeiro *et al.*, 2012).

Tabela 2 – Caracterização do resíduo cervejeiro úmido *in natura* e da levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Parâmetros	(Autor, 2018) %	(Ehrenbrienk, 2016) %	(Bourscheidt, 2011) %	Cordeiro <i>et al.</i> , 2012)
Umidade Residual	83,05 ± 0,33	78,40	82,19	75,45
Matéria Seca	18,23 ± 0,12	21,60	17,81	-
Proteína Bruta	3,79 ± 0,20	5,35	5,70	5,37
Matéria Mineral	0,71 ± 0,02	0,58	0,63	1,29
Carboidratos	11,58	14,67	10,48	15,46
Lípidios	0,87 ± 0,67	1,00	1,00	2,43
Proteína Bruta (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	5,79 ± 0,18	-	-	-

Fonte: Autor, Ehrenbrienk e Bourscheidt, Cordeiro *et al.*, 2018, 2016, 2011, 2012.

Pela Tabela 2 o teor de proteína obtido neste trabalho foi de (3,79%) valor este inferior ao encontrado na caracterização do resíduo úmido cervejeiro *in natura* pelos outros três autores em comparação, sendo de (5,35, 5,70 e 5,37 %), esta variação pode ser decorrente do lote em análise e também da cervejaria fornecedora do resíduo, uma vez que os insumos utilizados na produção de cervejas podem variar de um lote para o outro e de uma cervejaria para outra.

O valor da matéria seca neste estudo foi de (18,23%) o qual é muito semelhante ao encontrado por Bourscheidt (2011) sendo de (17,81%). Ainda em comparação com os resultados do autor citado, os valores determinados de matéria mineral, carboidratos e lipídios (0,71, 11,58 e 0,87%, respectivamente) estão em concordância. Ehrenbrienk (2016)

encontrou resultados muito semelhantes, sendo 0,58%, 14,67% e 1,00% assim como Cordeiro *et al.* (2012) 1,29 % , 15,46% e 2,43 % para matéria mineral, carboidratos e lipídios, respectivamente.

O teor de umidade presente na amostra para submeter em fermentação segundo Yang (1998) deve estar em torno de 70% para que os micro-organismos apresentem um maior desempenho. Neste estudo, o bagaço de malte apresentou (83,05%) de umidade, sendo este, um teor considerado ótimo para fermentação. Nos estudos em comparação, o teor de umidade foi de (78,40, 82,19, e 75,45 %) sendo muito semelhante ao determinado neste estudo. O alto teor de umidade no bagaço de malte é decorrente da adição de grandes quantidades de água no processo produtivo de cervejas. Sendo assim, o resíduo leva a umidade adquirida no processo.

A determinação da proteína bruta para a levedura utilizada na fermentação foi de 5,79 % quando comparada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercializada na forma seca que possui em sua composição nutricional em média 45 % de proteína bruta, valor este muito superior ao teor da levedura utilizada neste estudo.

Os resultados obtidos neste estudo quando comparado aos da literatura são compreensíveis quando se sabe que a composição centesimal no subproduto utilizado pode apresentar variações decorrentes de diversos fatores como: variedade da cevada, tempo de colheita, os cereais empregados no processo de moagem assim como as condições de moagem e mosturação, entre outros fatores (CORDEIRO, 2012).

Desta forma, o resíduo cervejeiro (bagaço de malte) é uma ótima fonte de nutrientes para leveduras, pois apresenta um alto teor de umidade, não sendo necessária a adição de água no processo fermentativo, o que o torna facilmente empregável em fermentação em estado sólido, suprimindo os nutrientes necessários para propagação da levedura.

4.2 ENRIQUECIMENTO PROTEICO

A fermentação em estado sólido para o enriquecimento proteico do bagaço de malte foi conduzida com duas variáveis, sendo elas a concentração do inóculo e o tamanho das partículas do substrato. Os resultados obtidos para proteína e umidade em porcentagem nos tempos de coleta de 0h, 10h, 24h, 48h e 72h estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados do teor de proteína (P.B) e umidade (U) pelo enriquecimento proteico através da fermentação em estado sólido em diferentes concentrações de inóculo e de granulometria do substrato.

Concentração $4,5 \times 10^{10}$ UFC/500g de Bagaço de Malte							
Tempo (h)		In Natura	0	10	24	48	72
Bagaço de Malte 1,168 mm	P.B (%)	3,27 ±	3,37 ±	4,11 ±	4,60 ±	5,23 ±	4,14 ±
		0,20	0,62	0,25	0,35	0,03	0,29
	U. (%)	83,05 ±	80,64 ±	79,99 ±	79,01 ±	80,47 ±	81,61 ±
		0,33	0,15	0,47	0,34	0,62	0,19
Bagaço de Malte 0,589 mm	P.B (%)	3,27 ±	3,80 ±	4,20 ±	4,69 ±	5,50 ±	4,23 ±
		0,20	0,37	0,45	0,56	0,46	0,48
	U. (%)	83,05 ±	80,93 ±	78,92 ±	78,70 ±	79,53 ±	80,14 ±
		0,33	0,22	0,51	0,74	0,28	0,36
Concentração $9,0 \times 10^{10}$ UFC/500g de Bagaço de Malte							
Tempo (h)		In Natura	0	10	24	48	72
Bagaço de Malte 1,168 mm	P.B (%)	3,27 ±	3,61 ±	3,86 ±	4,39 ±	5,02 ±	3,94 ±
		0,20	0,23	0,31	0,39	0,09	0,43
	U. (%)	83,05 ±	82,93 ±	81,47 ±	80,80 ±	82,05 ±	83,38 ±
		0,33	0,41	0,25	0,33	0,24	0,11
Bagaço de Malte 0,589 mm	P.B (%)	3,27 ±	3,81 ±	4,28 ±	4,80 ±	5,43 ±	4,28 ±
		0,20	0,14	0,25	0,03	0,04	0,25
	U. (%)	83,05 ±	82,55 ±	80,96 ±	80,19 ±	81,12 ±	82,23 ±
		0,33	0,28	0,25	0,34	0,23	0,49

Fonte : Autor, 2018.

Na Tabela 3 observa-se um aumento do teor proteico da amostra até o tempo de 48 horas e no tempo seguinte, tem-se um decaimento deste teor para todas as variáveis empregadas neste estudo.

Para a condição de maior tamanho de partícula (1,168 mm) e menor concentração do inóculo ($4,5 \times 10^{10}$ UFC) foi obtido o maior teor proteico de 5,23 % em 48 horas de experimento e para as mesmas condições a menor porcentagem de umidade determinada foi no tempo de 24 horas sendo de 79,01 %.

Já para o menor tamanho de partícula (0,589 mm) e mesma concentração do inóculo ($4,5 \times 10^{10}$ UFC) foi obtido o maior teor proteico de 5,50 % em 48 horas e com as mesmas

condições a menor porcentagem de umidade determinada foi de 78,70 % também em 24 horas.

Quando analisado o enriquecimento proteico utilizando a maior concentração do inóculo ($9,0 \times 10^{10}$ UFC) e maior tamanho de partícula (1,168 mm) obteve-se o maior teor de 5,02 % com 72 horas e a umidade mais inferior de 80,80 % após 24 horas de cultivo.

Quando analisado com mesma concentração do inóculo ($9,0 \times 10^{10}$ UFC), contudo com o menor tamanho de partícula (0,589 mm) tem-se um aumento máximo de proteína de 5,43 % e uma redução na umidade chegando a 80,19 %.

O aumento máximo do teor proteico no tempo de 48 horas foi favorecido na amostra contendo a menor concentração do inóculo e menor granulometria. O valor encontrado foi de 5,50 %. A maior concentração do inóculo também apresentou rendimento positivo, com teor proteico de 5,43% representando um aumento de 1,65 vezes em relação a amostra *in natura*. Desta forma, pode-se afirmar que quando trabalhado com tamanhos reduzidos de partícula, obtém-se maior rendimento fermentativo. A possível razão para isso está relacionada com o aumento da área superficial substrato, favorecendo desta forma o contato da levedura com maiores áreas do substrato. Contudo, um tamanho muito reduzido das partículas em um meio com grande percentual de umidade pode-se obter um resultado contrário, uma vez que pode resultar em aglomeração das partículas, afetando diretamente na respiração/aeração do meio (HASAN, 2002).

A diferença entre os teores proteicos obtidos com as variáveis trabalhadas foi baixa. O menor teor obtido foi de 5,02% e o maior de 5,53% sendo esta variação pequena quando comparado a outros estudos em que as variáveis impactam largamente o resultado final.

No estudo realizado por Canedo (2015) o autor obteve resultados muito satisfatórios utilizando na fermentação o microorganismo *R. oligosporus* e ainda, suplementando o meio com sulfato de amônio, sendo representado por um aumento de 16,8% em relação a amostra não fermentada.

Oliveira (2007) ao avaliar o enriquecimento proteico de uma mistura contendo três resíduos agroindustriais (casca e coroa do abacaxi e a casca do maracujá) na proporção de 500 g de substrato para uma variação no inóculo de 1, 3 e 5 % (*Saccharomyces cerevisiae*) variando as temperaturas de 30, 34 e 38 °C houve aumento máximo de 2,40 vezes em relação à amostra *in natura* após 48 horas de cultivo.

No estudo realizado por Ehrenbrienk (2016) foi utilizado à levedura *Saccharomyces cerevisiae* comercializada na forma seca que contem 45% de proteína bruta, o autor utilizou quantidades de 10% e 15% de levedura em relação ao volume de substrato. Quando

trabalhado nesta condição, já no tempo inicial (T0) o bagaço de malte apresentou um teor de proteína bruta média de 33,50% sendo este teor atribuído grande parte a levedura empregada ao meio. O autor trabalhou com duas variáveis sendo elas o volume do substrato e volume do inóculo e obteve um aumento máximo de 1,84 vezes em relação à amostra *in natura*.

O autor Araujo et al., (2008) também utilizou no estudo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* prensada e comercializada na forma de fermento biológico em uma concentração de 1% para o enriquecimento proteico de palma forrageira este obteve um teor de proteína inicial de 6,13 e após 36 horas de experimento é obtido 9,22% de proteína bruta. Já Araújo (2004) ao utilizar a mesma levedura variando a concentração para 15% obteve um teor proteico de 26% após 12 horas de experimento.

Amorin *et al.* (2005) ao avaliarem o enriquecimento proteico da polpa forrageira em reator de bandeja tendo como inóculo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* com variação nas concentrações de 5 e 15 % e conduzindo a fermentação na temperatura de 30°C obtiveram um aumento no teor de proteína de 1,42 e 1,46 vezes em comparação a amostra antes do processo fermentativo.

Na Tabela 3 é possível avaliar a umidade do meio fermentativo durante o tempo em que o experimento foi conduzido. Dentre as variáveis que foram avaliadas neste estudo a umidade apresentou o mesmo comportamento, sendo de redução no teor de água até o tempo de 24 horas e na coleta seguinte (48h) já se observa um aumento no teor de umidade para todos os experimentos. Porém a condição que foi obtida uma maior redução no percentual de umidade no tempo de 24 horas foi utilizando a menor concentração do inóculo e também o menor tamanho de partícula do substrato, o qual foi obtido um teor de umidade de 78,70%, condição esta considerada a melhor tanto para o aumento proteico como também para redução da umidade do meio.

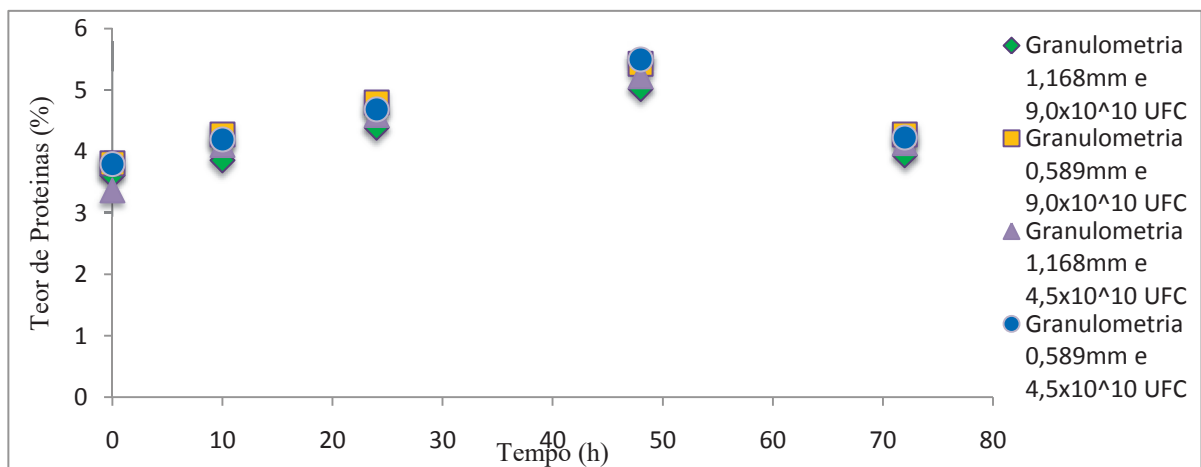
Ehrenbrienk (2016) conseguiu um rendimento muito mais satisfatório na redução de umidade do meio, sendo o menor teor de umidade determinada entre as variáveis estudadas de 21,82 %. As condições de trabalho proposta pelo autor demonstraram maior eficiência quando comparado a este estudo, onde houve um aumento na escala de trabalho sendo de 500g de substrato enquanto Ehrenbrienk (2016) trabalhou com uma variação de 50g e 80g. Ainda, a variação da levedura utilizada também pode ter influenciado diretamente neste rendimento, enquanto o autor trabalhou com levedura comercializada na forma seca, neste estudo trabalhou-se com a levedura em solução cedida pela indústria cervejeira.

O baixo rendimento na redução de umidade neste estudo pode ser decorrente da condução do experimento em grandes escalas, de forma que um grande volume pode

apresentar resistência térmica, decorrente da dificuldade que a temperatura (30°C) tem em difundir-se pelo material. Desta forma, o material tende a reter a umidade por mais tempo (SCHIMIDELL, 2001). Como o resultado final indica que a umidade não foi grandemente afetada, entende-se como que o aumento do teor proteico no final da fermentação não está relacionado com a concentração de proteínas em consequência da redução da umidade.

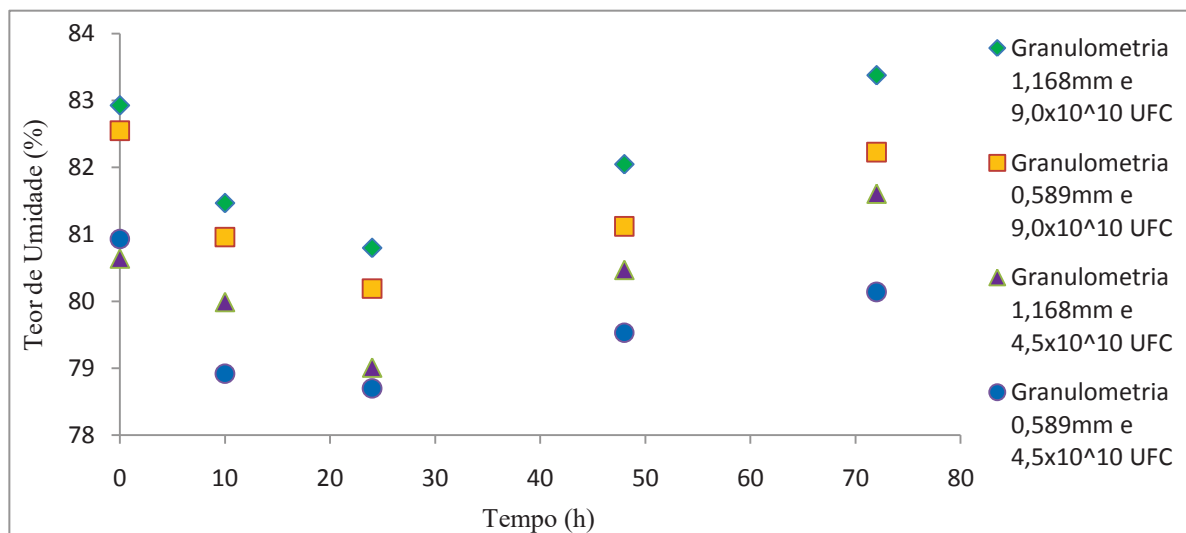
É possível observar a comparação do teor proteico e o teor de umidade em relação ao tempo de experimento na Figura 5 e na Figura 6 a seguir:

Figura 5: Teor de proteína bruta em relação ao tempo



Fonte: Autor, 2018.

Figura 6: Teor de umidade em relação ao tempo



Fonte: Autor, 2018.

Na Figura 5 é possível observar que todas as amostras apresentaram o mesmo comportamento, tendo o aumento linear no teor proteico até o tempo de 48 horas e com decaimento considerável a partir de 72 horas.

O decaimento no teor proteico após 48 horas de experimento pode ser justificado pela desnaturação proteica, decorrente da exposição por tempo prolongado a temperatura elevada de 30°C e/ou alteração do pH no meio (ARAUJO et al., 2009).

Os autores Santos, Gomes e Franco (2010) ao utilizar no estudo o micro-organismo *Aspergillus niger* em suspensão de 10^7 esporos por grama de substrato (abacaxi) obteve um aumento de 1,46 vezes no teor de proteína bruta após 168 horas de experimento.

Quando comparado ao estudo realizado por Ehrenbrienk (2016) no qual foi obtido um teor máximo de 45,50% de proteína bruta a este estudo que foi obtido o teor de 5,50% atribui-se a diferença à levedura utilizada. Pelo primeiro autor foi obtido um aumento máximo de 1,84 vezes, sendo neste estudo o aumento máximo de 1,68 vezes. Desta forma, é possível afirmar que em ambos os estudos o enriquecimento proteico foi satisfatório. Contudo, com o objetivo de enriquecimento proteico do resíduo úmido cervejeiro a melhor levedura a ser utilizada é a que apresenta o maior teor proteico em sua composição apesar de não garantir a reprodutibilidade do método.

Na Figura 6 é possível visualizar o decaimento da umidade em relação ao tempo, de forma que todas as variáveis apresentam comportamentos semelhantes, onde se obteve um decaimento da umidade até 24 horas de coleta com o aumento na umidade na coleta seguinte (48h). O aumento máximo na umidade está concentrado no tempo final da análise (72 horas).

É visível que com as partículas de menor diâmetro e com menor concentração de inóculo foi obtido o menor índice de teor de umidade. No estudo realizado Ehrenbrienk (2016) foi obtido um menor teor de umidade quando utilizado um menor volume de substrato, sendo assim, tem-se uma dissipação de calor mais uniforme no meio, fazendo com que as partículas liberem a umidade mais facilmente. O mesmo efeito pode ser favorecido pela redução no tamanho das partículas.

A perda de água da amostra é ocasionada pela incidência do calor na superfície das partículas fazendo com que haja a condução do calor até o interior das mesmas, promovendo a remoção da água presente na composição da amostra. Sendo assim, uma grande quantidade, como neste estudo, que foi conduzido em uma escala maior, tende a reter mais umidade do que uma amostra em menor quantidade. Para que haja uma redução mais eficiente no percentual de água faz-se necessário uma exposição a uma temperatura mais elevada ou/e uma exposição mais prolongada (CECCHI, 2003).

O armazenamento e transporte do bagaço de malte com alto percentual de umidade, além de encarecer esta etapa, devido ao aumento na massa do produto, apresenta um grande

problema com relação a contaminação, uma vez que promove proliferação de microrganismos indesejados de forma acelerada, prejudicando assim a destinação para alimentação animal.

O estudo de fermentação em estado sólido do resíduo úmido cervejeiro em uma grande escala utilizando frascos de Fernbach foi satisfatório no aumento do teor proteico, contudo, o método empregado no processo não foi eficiente na redução de umidade deste subproduto.

5 CONCLUSÃO

Pelo processo de fermentação em estado sólido do resíduo úmido cervejeiro em uma grande escala utilizando frascos de Fernbach pode-se concluir que o método é ineficiente na redução da umidade deste subproduto, o qual era um dos objetivos deste trabalho a fim de prolongar o tempo de armazenamento e facilitar o transporte deste.

O método para o enriquecimento proteico do bagaço de malte foi mais satisfatório quando trabalhado em menores tamanhos de partículas em conjunto com menor concentração do inóculo da levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Apesar do baixo rendimento na redução da umidade do resíduo úmido cervejeiro é possível aplicar o processo de fermentação em estado sólido utilizando a junção de dois resíduos gerados no processo produtivo em grandes proporções e obter um subproduto para comercialização sem custos adicionais e ainda, excluir processos de tratamento de resíduos e consequentemente redução nos gastos gerados pela indústria.

Por meio da fermentação é possível elevar a concentração de proteína do bagaço de malte em 1,65 vezes quando comparado a amostra *in natura* sendo que para alimentação de animais ruminantes recomenda-se uma dieta com teor de proteína em torno de 7 % e com condução do experimento nas condições proposta neste estudo, foi possível obter um teor de proteína próximo ao recomendado.

As concentrações do inóculo utilizadas em conjunto com a variação no tamanho das partículas empregadas na fermentação em estado sólido teve bom rendimento no ganho proteico em ambas as variações submetidas ao processo fermentativo.

Desta forma, conclui-se que a fermentação em estado sólido é uma alternativa rentável para aprimorar as qualidades dos resíduos gerado na indústria cervejeira, resultante da combinação de dois resíduos gerados em larga escala (fermento e bagaço de malte), contribuindo para redução de custos com deposição final.

REFERÊNCIAS

ALIYU, Salihu; BALA, Muntari. **Brewer's spent grain: a review of its potentials and applications**. African Journal of Biotechnology, Nairobi, v. 10, n. 3, p. 324-331, 2011.

ARAÚJO, L.F. **Enriquecimento proteico do mandacaru sem espinhos (Cereus jamacaru P.DC) e palma forrageira (Opuntia ficus- indica Mill) por fermentação semi-sólida**. Tese Doutorado em Engenharia de Processos, Universidade de Campina Grande, Campina Grande, 2004.

ARAÚJO, L. F.; *et al.* **Estudo do enriquecimento proteico do mandacaru sem espinhos (Cereus jamacaru P.DC) utilizando leveduras por fermentação semi-sólida**. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

ARAÚJO, L. F.; *et al.* **Enriquecimento nutricional da casca da mandioca (manihot esculenta, crantz) por processo biotecnológico destinado à alimentação animal**. 2017. Revista Raízes e Amidos Tropicais. Vol.13, nº1. p.18-30, 2017.

ARAÚJO, L. F. *et al.* **Bioconversão do mandacaru sem espinhos (Cereus jamacaru) em alimento alternativo para ruminantes** Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2009.

BOURSCHEIDT, C. T. **Estudo da cinética de secagem e caracterização nutricional do bagaço de malte obtido da filtração da mostura de uma cervejaria**. 2011. 64 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Tecnologia Federal do Paraná, Toledo, 2011.

CANEDO, M. S. **Enriquecimento proteico do bagaço de malte por rhizopus oligosporus cct 4134 e adição em dietas de juvenis de tilápia do nilo (oreochromis niloticus)**. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2015.

CASTRO, M. O.; **Obtenção de cerveja super concentrada com a utilização de xarope de milho com adjunto de malte**. 2014. 145f. Dissertação de Mestrado - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena, 2014

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2^a. ed. Campinas: 2003.

CORDEIRO, G. L.; EL-AOUAR, A. A.; GUSMÃO, R P. **Caracterização do bagaço de malte proveniente de cervejarias**. 2012. Revista verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. Vol.07, nº3. 2012.

DRAGONE, G.; MUSSATO, S. I.; SILVA, J. B. A. **Utilização de mostos concentrados na produção de cervejas pelo processo contínuo: novas tendências para o aumento da produtividade**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27, p.37-40, 2007.

DRAGONE, G.; SILVA, J. B. A. FILHO, W. G. **Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Blücher, 2010.

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

EHRENBRIENK, S. **Efeito da concentração da levedura saccharomyces cerevisiae no enriquecimento proteico do bagaço de malte por fermentação em estado sólido**. 2016. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Tecnologia em Processos Químicos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2016.

HASAN, S. D. M. **Produção, recuperação e caracterização de proteínas alergênicas da biomassa de Drechslera (Helminthosporium) monóceras obtida por fermentação em estado sólido**. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. IV ed. 1ª ed. digital. Versão eletrônica: **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008

JORDAN, R. A. **Caracterização granulométrica de biomassa polidispersa pelo método de peneiramento mecânico**. Engenharia. 2016. Revista Engenharia Agrícola, Jaboticabal. Vol.36, nº1. p.102-113, 2016.

LIMA, V. F. **Processos biotecnológicos aplicados ao bagaço de laranja para redução dos custos na alimentação animal**. 2017. Revista Brasileira de Tecnologias Agroindustriais, Ponta Grossa. Vol.11, nº2. p.2466-2483, 2017.

McFARLAND, J. **Nephelometer: An Instrument for Estimating the Number of Bacteria in Suspensions Used for Calculating the Opsonic Index and for Vaccines**. 1907. Journal of the American Medical Association, p.1176-1178, 1907.

MENEZES, M. L. **Remoção do Corante Reativo Azul 5G a partir de Soluções Aquosas Utilizando o Bagaço do Maracujá Amarelo como Adsorvente**. 2010. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

OLIVEIRA, M. M. **Enriquecimento nutricional por bioconversão de resíduos agroindustriais para utilização na alimentação animal**. 2007. 121f. Tese (Doutorado em Engenharia de processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia. Campina Grande: 2007.

OLIVEIRA, M. R.; *et a.* **Resposta econômica na terminação de novilhos confinados com silagens de milho (Zea mays L.), em diferentes estádios de maturação, associadas a dois níveis de concentrado na dieta**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v.10, n.2, p.87-95, 2011.

- PARK, S.; RAMIREZ, W.F. **Dynamics of foreign protein secretion from *Saccharomyces cerevisiae***. Biotechnology and Bioengineering, New York, v. 33, p. 272, 1989.
- PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I.O. **Utilização de Resíduos AgroIndustriais em Processos Biotecnológicos como Perspectiva de Redução do Impacto Ambiental**. Journal of Technology Management & Innovation, V.2, p. 118-127, 2007.
- PINTO, G. A. S.; *et al.* **Fermentação em Estado Sólido: Uma Alternativa para o Aproveitamento e Valorização de Resíduos Agroindustriais Tropicais**. Comunicado Técnico 102. Embrapa, Fortaleza, 2005
- REIS, L. F. E. **Produção e análise de cerveja artesanal utilizando adjuntos de milho cultivado na região centro-oeste brasileira**. 2016. 60f., Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade de Brasília, Brasília, 2016.
- REIS, V. R. **Caracterização de linhagens selvagens de *Saccharomyces cerevisiae* isoladas de processos fermentativos para produção de etanol**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- ROBERTSON, J. A.; *et al.* **Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production**. Food Sci. Technol., n. 43, p. 890-896, 2010.
- SANTOS, M. S.; RIBEIRO, F. M. **Cervejas e Refrigerantes**. São Paulo: CETESB, 2005. 58 p. Disponível em: <https://www.crq4.org.br/downloads/cervejas_refrigerantes.pdf> Acesso em 07 jan. 2018.
- SANTOS, T.C.; *et al.* **Optimisation of solid state fermentation of potato peel for the production of cellulolytic enzymes**. Food Chemistry, v.133, p.1299-1304, 2012.
- SCHMIDELL, W. *et al.* **Biotecnologia Industrial. Engenharia Bioquímica**. v.2. Editora Edgard Blücher LTDA. São Paulo, 2001.
- SILVA, G. M. B. M.; *et al.* **Enriquecimento proteico do resíduo da mandioca para alimentação de ruminantes**. In: XXIV. CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA (CIC-CIT). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2014.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 2002.
- SILVA, L.J.; *et al.* **Enriquecimento proteico de resíduo de umbu-cajá empregando fermentação semissólida**. Revista Verde - ISSN 1981-8203 - (Pombal - PB) v. 12, n.5, p.854-857, Edição Especial, 2017.
- SOUSA, A. P. A., **Produção de cerveja artesanal com diferentes teores alcoólicos: avaliação química e sensorial**. 2017. 80f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Centro Universitário de Formigas – Minas Gerais, 2017.
- VENTURINI FILHO, W. G.; CEREDA, M. P. **Biotecnologia Industrial: Biotecnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, cap. 4, p. 91-144. 2001.

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. **Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental.** Journal of Technology Management & Innovation, Santiago, v. 2, n. 1, p. 118-127, 2007.

PERUCHENA, C. A. **Suplementación de bovinos para carne sobre pasturas tropicales, aspectos nutricionales, productivos y econômicos.** REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., Porto Alegre, 1999. Porto Alegre: SBZ, 1999.

PRIEST, F. G.; STEWART, G. G. **Handbook of Brewing.** 2 ed. Flórida: CRC Press and Taylor & Francis Group, 829p, 2006.

YANG, S.S. **Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid-state fermentation.** Biotechnology and Bioengineering, New York, v.32, p.886-890, 1988.