

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CAMPUS DE MEDIANEIRA

LEANDRO DILLMANN

ESTUDOS PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO E VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE BAGAÇO DE MALTE

MEDIANEIRA

2018

LEANDRO DILLMANN

ESTUDOS PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO E VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE BAGAÇO DE MALTE

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como exigência para obtenção de Título na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do curso de Licenciatura em Química, ministrado pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Medianeira.

Orientador: Prof. Dr. Michelle Budke Costa

MEDIANEIRA

2018

ESTUDOS PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO E VERIFICAÇÃO DA ATIVIDADE  
ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE BAGAÇO DE MALTE

**LEANDRO DILLMANN**

Este trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 02 de Julho de 2018  
como requisito parcial para a obtenção do Título de:

**Licenciado em Química**

O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores  
abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho  
aprovado.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Michelle Budke Costa  
(Orientador)

---

Prof. Me. Alex Sanches Torquato  
(Avaliador)

---

Prof. Dr. Oldair Donizete Leite  
(Avaliador)

Obs.: O presente termo de aprovação encontra-se devidamente assinado na  
Coordenação do Curso de Licenciatura em Química da UTFPR – Medianeira – PR

## AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente à Deus pela dádiva da vida.

Ao meu pai e minha mãe, Sr. Ivo e Sra Jacinta, minha irmã Eliane e meu cunhado Jair, por todo carinho e dedicação, por acreditarem e me incentivarem quando eu mais precisava.

À minha esposa Solange por ter a paciência de me deixar no escritório horas e mais horas estudando, pesquisando e concretizando não só esse trabalho, mas durante o curso todo.

Agradeço à minha amada filhinha Maísa por compreender que o papai precisava estudar mesmo querendo a atenção, que ele merece, mas nem sempre possível.

Ao Sr. Álvaro Luis Piccinin por fornecer o bagaço de malte (objeto de estudo desse trabalho).

À minha orientadora Michelli, pela orientação e amizade, por ter acreditado em mim e dado o suporte necessário para a concretização desse trabalho.

Aos professores Alex Torquato e Oldair D. Leite e à pesquisadora Daneysa L. Kalschne que tiveram uma participação essencial, me ajudando na realização das análises.

Agradeço à todos os meus colegas e amigos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

“...Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar no sonho que se tem ou que os seus planos nunca vão dar certo ou que você nunca vai ser alguém..”- Renato Russo

## RESUMO

A cerveja é uma das bebidas mais consumidas e mais populares no mundo inteiro. O Brasil, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), consumiu em 2016 por pessoa 8,9 litros e superou a média mundial que foi de 6,4 litros por pessoa naquele ano. Em termos de produção, somos o terceiro maior produtor mundial de cerveja, participando com 16% do nosso PIB, gerando 2,2 milhões de empregos fixos. Esse enorme volume de produto gera também um grande volume de resíduo, dentre eles o *bagaço de malte* é o principal subproduto da indústria cervejeira. Tendo em vista que atualmente busca-se cada vez mais nos alimentos substâncias com capacidade antioxidante e, por outro lado, também a preservação do meio ambiente, otimizar processos e reutilizar resíduos tornou-se extremamente importante. Pensando nisso, pretendeu-se com esse estudo determinar o potencial antioxidante do bagaço de malte. A atividade antioxidante foi determinada pelo método 2,2-difenil-1-hidrazil (DPPH) que baseia-se na captura do radical DPPH por antioxidantes, consequentemente abaixando a absorbância da amostra lida em espectrofotômetro e expressa em %AA. O melhor resultado de extração de compostos bioativos de extrato de malte para atividade antioxidante conseguida, dentre as combinações testadas de massa de bagaço de malte, tempo de agitação em ultrassom e número de extrações, ocorreu em 1,2 g de farinha de bagaço de malte submetida à 10 minutos de ultrassom em 3 extrações subsequentes, dando um resultado de 44,1 %AA. Nota-se que os extratos de bagaço de malte apresentam concentrações menores de compostos bioativos com características antioxidantes se comparadas a outros vegetais ou frutas. Ainda assim, devido ao grande volume de bagaço de malte descartado pós fabricação da cerveja, é prudente aprofundar estudos para verificar a viabilidade comercial do reaproveitamento do bagaço de malte para extração de compostos antioxidantes.

**Palavras-Chave:** bagaço de malte, atividade antioxidante, método DPPH

## ABSTRACT

Beer is one of the most consumed and most popular drinks in the entire world. According to World Health Organization (WHO), Brazil consumed, on 2016, 8.9 liters per person, surpassing the world average, which on that year was 6.4 liters per person. When comes to production, we are the third larger producer in the world, participating with 16% of our gross national product, creating 2.2 millions of jobs. This great volume of production also create a large amount of residues, among them the malt bagasse, which is the main sub-product of the beer industry. Noting that actually the food industry search more and more substances with antioxidant capacities and also to preserve the environment. Optimizing process and reuse residues became extremely important. Thinking about it, this study meant to determinate the antioxidant potential of the malt bagasse. The antioxidant activity were determined through the 2,2-diphenyl-1-hydrazyl (DPPH) method, witch is based on the capture of the radical DPPH for antioxidants, consequently downsizing the absorbance of the sample read in a spectrophotometer and expressed in %AA. The best extraction result of bio-active compounds of malt extract for antioxidants activities obtained, among the tested combinations of malt bagasse mass, ultrasound agitation time and number of extractions, were 1,2g of malt bagasse flour submitted on 10 minutes of ultrasound and 3 later extractions, resulting in 44,1 %AA. It was noticed that the malt bagasse extracts present moderate concentration of bio-active compounds with antioxidant characteristics if compared with others vegetables and fruits, but still, due to the great volume of malt bagasse that is discarded after the beer production, it is wise to make more studies to verify the sales viability of the malt bagasse reuse for extraction of the antioxidant compounds.

**Keywords:** malt bagasse, antioxidants activities, DPPH method

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas químicas de alguns compostos fenólicos encontrados na cerveja.....	20
Figura 2 – Estabilização do radical livre DPPH.....	21
Figura 3 – Bagaço de Malte seco e moído.....	26
Figura 4 – Curva de calibração - DPPH ( $\mu\text{M}$ ) x Absorbância.....	27

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Gráfico de Pareto para farinha de bagaço de malte e variáveis dependentes.....31

Gráfico 2 - gráfico de superfície referente à resposta Atividade Antioxidante em função dos fatores: Tempo de agitação x Número de Extrações.....32

Gráfico 3 - gráfico de superfície referente à resposta Atividade Antioxidante em função dos fatores: Massa da amostra x Número de Extrações.....33

Gráfico 4 - gráfico de superfície referente à resposta Atividade Antioxidante em função dos fatores: Massa da amostra x Tempo de agitação.....33

## LISTA DE TABELAS

Tabela1 — Planejamento Fatorial.....	22
Tabela 2 - Soluções de concentrações de DPPH (10 a 60 $\mu$ M).....	24
Tabela 3 - Absorbâncias das diluições de DPPH (10 a 60 $\mu$ M).....	27
Tabela 4 - Resultados referentes ao delineamento fatorial para AA pelo método DPPH.....	28
Tabela 5 - Análise de Variância (ANOVA) para as variáveis dependentes em AA por DPPH.....	31

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1 Objetivo Geral .....	13
2.2 Objetivos Específicos .....	13
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
3.1 CONTEXTO HISTÓRICO.....	14
3.2 PRODUÇÃO DA CERVEJA .....	15
3.3 CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES DO BAGAÇO DE MALTE.....	16
3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS AGENTES ANTIOXIDANTES.....	18
3.5 MÉTODO QUÍMICO DE QUANTIFICAÇÃO.....	19
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>22</b>
4.1 MATERIAIS .....	22
4.2 MÉTODOS.....	22
4.2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	22
4.2.2 TRATAMENTO DA AMOSTRA BRUTA DE BAGAÇO DE MALTE.....	22
4.2.3 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO BAGAÇO DE MALTE E DELINEAMENTO FATORIAL.....	23
4.2.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO.....	24
4.2.5 ATIVIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH EXPRESSO EM %AA ...	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>26</b>
5.1 EXTRAÇÃO.....	26
5.2 CURVA PADRÃO DPPH.....	27
5.3 ANÁLISES DAS AMOSTRAS EM ESPECTROFOTÔMETRO.....	28
5.4 ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA).....	30
5.5 ANÁLISE DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS PELO GRÁFICO PARETO.....	31
5.6 SUPERFÍCIES DE RESPOSTA.....	32
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Acredita-se que a cerveja surgiu 6000 a.C. no Egito, ganhou importância econômica na idade média e entrou no Brasil junto com os colonos europeus, e até hoje é apreciada pelos brasileiros (SILVA, LEITE e PAULA, 2016).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de cerveja, em 2016 produziu cerca de 14 bilhões de litros. O setor cervejeiro participa de 1,6% PIB e gera 2,2 milhões de empregos fixos (CERVBRASIL, 2016).

A cerveja é a bebida alcoólica obtida através da fermentação da cevada, onde o açúcar presente no mosto torna-se álcool. O malte moído e seus adjuntos são fervidos e filtrados, gerando mosto e bagaço de malte (CORDEIRO, EL-AOUAR e GUSMÃO, 2012).

O bagaço de malte é o principal subproduto da indústria cervejeira. Esse subproduto é rico em compostos fenólicos que possui ação antioxidante (SOUSA et al., 2016), esses podem agir de duas formas: impedindo a formação dos radicais livres ou evitando danos oxidativos por meio da intercepção dos radicais livres, trazendo benefícios à saúde dos organismos; e conservando os alimentos (FERNANDEZ-PANCHON et al., 2008).

Atualmente, buscam-se cada vez mais nos alimentos substâncias com capacidade antioxidante (VARGAS, HOELZEL e ROSA, 2008), visando a melhoria da saúde e retardo do envelhecimento (OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, a população tem se voltado para preservação do meio ambiente, por isso muitos trabalhos buscam otimizar processos e reutilizar resíduos (OLIVEIRA et al., 2009; CORDEIRO, EL-AOUAR e GUSMÃO, 2012). Apesar da grande aplicação do bagaço de malte para ração animal, o mesmo também pode ser utilizado para alimentação humana (DOBRZANSKI, DIAS e AYALA, 2008), produção de energia direta ou por produção de biogás via fermentação anaeróbia, produção de carvão vegetal, material adsorvente em tratamentos químicos, cultivo de microrganismos e obtenção de bioprodutos por fermentação, suporte para imobilização celular, dentre outros (MATHIAS, MELLO e SERVULO, 2014).

Assim o presente trabalho tem como objetivo determinar a atividade antioxidante do bagaço de malte obtido junto à um produtor de cerveja artesanal da cidade de Medianeira – PR.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Otimizar o processo de extração e determinar a atividade antioxidante do bagaço de malte.

### 2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Estudar as condições do processo de extração dos compostos fenólicos do bagaço de malte;

2.2.2 Avaliar a atividade antioxidante dos extratos através do método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 CONTEXTO HISTÓRICO

Silva, Leite e Paula (2016) explanam que, em cidades construídas em 6000 a.C. foram encontrados desenhos rupestres que remetem à produção de uma bebida parecida com a cerveja. Além disso, escavações arqueológicas do século XIX encontraram resquícios de cevada em vasos localizados no interior de tumbas de faraós, tal fato leva algumas pessoas crerem que a cerveja tenha origem no Oriente Médio ou no Egito. Os egípcios apresentam registros de produção de cerveja em larga escala, onde a bebida era utilizada para relaxar os trabalhadores que erguiam as pirâmides (FURIGO et al., 2009).

Na Idade Média a Igreja Católica foi a primeira a engajar pesquisas, a fim de obter melhorias na produção e no gosto da bebida. O imperador Carlos Magno consolidou a cerveja como mercadoria de importância econômica ao decretar um conjunto de regras que reconhecia os cervejeiros como artesãos especializados, e ocupantes de uma posição de destaque entre a organização dos vilarejos (SILVA, LEITE e PAULA, 2016). Os autores supracitados relatam que a cerveja chegou ao Brasil junto com as colônias Europeias, por meados de 1808. A bebida era produzida em pequena escala de maneira artesanal.

Em 1860, surgiram as primeiras cervejarias, porém a primeira a produzir a bebida em escala industrial surgiu entre 1870 e 1880 na cidade de Porto Alegre (SILVA, LEITE e PAULA, 2016). Hoje o setor cervejeiro no Brasil é de extrema relevância para a economia do país, pois no ano de 2016 a cadeia produtiva gerou 2,2 milhões de empregos, foi responsável por 1,6% do PIB e 14% da indústria de transformação nacional. No período de janeiro a novembro de 2016, o setor produziu 14 bilhões de litros de cerveja, ficando atrás apenas da China e dos EUA, tornando-se o terceiro maior produtor mundial de cerveja (CERVBRASIL, 2016).

Atualmente, existe uma enorme pressão política e social no que diz respeito à redução de cargas poluentes provenientes do setor industrial. Segundo Sousa et al. (2016), o bagaço de malte é o principal subproduto da indústria cervejeira, pois a cada 100 litros de cerveja produzida, gera 20 kg de resíduos disponíveis o ano inteiro e em grande quantidade. Mathias, Mello e Servulo (2014) mostram que esse subproduto tem características e potencial para ser utilizado em tecnologias de bioprocessos.

### 3.2 PRODUÇÃO DA CERVEJA

Segundo estimativa da Conab (2017), na safra do ano de 2016 o Brasil produziu 263 mil toneladas de grãos de cevada. A cevada é o principal cereal utilizado como matéria-prima na produção de cervejas, das espécies cultivadas, as cultivares de cevada ditas “cervejeiras” são as mais utilizadas no processo de fabricação. Porém, outros cereais também podem ser utilizados tais como trigo, arroz e milho (NAKANO, 2000; SANTOS et al., 2003; REBELLO, 2009).

A cevada é uma gramínea do gênero *Hordeum*, composta basicamente por casca, endosperma e germe (embrião). O grão de cevada é rico em amido e proteínas. A casca funciona como agente filtrante, conferindo ao mosto melhor sabor e aroma, além disso, é rica em material celulósico, proteínas e tanino. O endosperma serve como fonte de energia para o embrião, contendo grande quantidade de carboidratos e proteínas, além de minerais e vitaminas. No embrião tem vitaminas do complexo B, lipídios, proteínas e minerais (EHRHARDT e SASSEN, 1995; VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001; MAYER, CASTELLANELLI e HOFFMAN, 2007).

Rebello (2009) demonstra os ingredientes utilizados no processo de fabricação da cerveja, basicamente utiliza-se água, malte de cevada, lúpulo e leveduras fermentativas.

A água corresponde a 93% da formulação, estima-se que para cada 1 litro de cerveja, 10 litros de água são consumidos, por isso a mesma deve ser inócua, livre de contaminação e rica em nutrientes. Do lúpulo se utiliza as flores femininas, pois são elas que dão à cerveja o sabor amargo e o aroma característico, através da liberação da lupulina. Além disso, o lúpulo tem como função evitar a formação de espuma, atuando como agente bacteriostático. As leveduras mais utilizadas são: *Sacharomyces cerevisae* e *Saccharomyces uvarum*, sua função é metabolizar os componentes do mosto em etanol e outros produtos da fermentação, a fim de produzir cerveja de qualidade (CARVALHO, BENTO e SILVA, 2006; REBELLO, 2009; VENTURINI FILHO, 2010; CERVESIA, 2017).

Para ser utilizado no processo de fabricação de cerveja, os grãos de cevada são submetidos ao processo de maltagem, a fim de elevar o conteúdo enzimático dos grãos. Após a colheita, os grãos de cevada são mantidos armazenados por quatro a seis semanas, até atingir seu máximo potencial germinativo, para então

poder ser malteada. No processo de malteação a cevada passa por três processos: maceração, germinação e secagem (REBELLO, 2009).

Na maceração os grãos de cevada são colocados em tanques com água, em temperatura ambiente, onde os grãos são mantidos por dois dias, com trocas sucessivas de água a cada oito horas. Essa etapa tem como objetivo fazer com que o grão ganhe umidade (hidratação) e ative seu metabolismo, induzindo germinação (REBELLO, 2009). Em seguida, a cevada é macerada e colocada em ambiente com temperatura controlada para germinar. (VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001; REBELLO, 2009). A germinação causa mudanças físico-químicas e estruturais nos grãos e, é através da germinação que se obtém as principais enzimas do malte. Ao final da germinação, após sete dias, o malte de cevada é obtido, seco e armazenado (TSCHOPE, 2001; VENTURINI FILHO e CEREDA, 2001; LIZARAZO, 2003; REBELLO, 2009).

Na indústria o malte de cevada é moído e misturado com água, essa mistura é aquecida a vários níveis de temperatura, cujo processo é denominado de mosturação, e tem como objetivo promover a hidrólise enzimática do malte, depois o amido é transformado em açúcares fermentativos (maltose e maltotriose) e não fermentativos (dextrinas). Feito isso, realiza-se uma filtração para separar a fração líquida, chamada mosto, da fração sólida, o bagaço de malte de cevada (DRAGONE, MUSSATTO e SILVA, 2007; REBELLO, 2009; CORDEIRO, EL-AOUAR e GUSMÃO, 2012; MATHIAS, MELLO e SERVULO, 2014). A cerveja resulta então da fermentação alcoólica do mosto de cereal malteado (FREITAS et al., 2006).

### 3.3 CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES DO BAGAÇO DE MALTE

O bagaço de malte é considerado um concentrado proteico de alto valor nutritivo, pois é rico em proteínas, fibras, vitaminas do complexo B e E, e compostos fenólicos (MUSSATTO, DRAGONE e ROBERTO, 2006; ARAÚJO et al., 2009; SOUSA et al., 2016). Segundo Mathias, Mello e Servulo (2014) o bagaço de malte é fibroso o que corresponde a 70% da massa seca, e proteico 25% da massa seca. Além disso, possui vitaminas, minerais e compostos fenólicos. O autor ainda cita que no processo de mosturação, só se retira os nutrientes necessários para produção de cerveja, o restante fica presente no bagaço de malte, e por isso, este subproduto tem potencial de reaproveitamento em outros processos. Apesar de todo seu

potencial, hoje o bagaço do malte é utilizado somente para alimentação animal (OLIVEIRA et al., 2009).

Visto o potencial deste subproduto da indústria cervejeira, estudos têm sido aplicados, com o objetivo de encontrar diferentes formas de aplicação e utilização para o bagaço de malte. Nos trabalhos de Mussato, Dragone e Roberto (2006, citado por MATHIAS et al., 2014), Lima (2010), Aliyu e Bala, (2011) relatam que é possível observar diferentes aplicações já estudadas para o bagaço do malte, dentre elas é possível citar: alimentação animal e humana; produção de energia direta ou por produção de biogás via fermentação anaeróbia; produção de carvão vegetal; material adsorvente em tratamentos químicos; cultivo de microrganismos e obtenção de bioprodutos por fermentação; suporte para imobilização celular; dentre outros.

Bartolomé et al. (2002), Öztürk et al. (2002) e Santos et al. (2003) demonstram a aplicação do bagaço de malte na alimentação humana, na produção de pães, biscoitos e petiscos. Foi observado que o produto tem potencial para ser utilizado na alimentação humana, por ter alto valor nutritivo, porém deve ser adicionado em pequenas quantidades (5 a 15 %) para não causar alteração no sabor dos alimentos; como proteína o bagaço de malte libera uma coloração escura, e por isso só pode ser utilizados em alimentos integrais como pães, biscoitos ou cookies, para não alterar a cor de alimentos mais claros e por apresentar granulometria grosseira deve ser processado antes de ser adicionados nos alimentos.

Outros trabalhos avaliaram o emprego do bagaço de malte em processos biotecnológicos como substrato para cultivo de microrganismos e enzimas. Para crescimento de microrganismo o bagaço de malte se mostrou eficiente devido ao seu alto teor de proteína, elevada umidade, tamanho de partículas, densidade e porosidade. Na produção de enzima se mostrou eficiente como substrato por ser excelente fonte de nitrogênio e energia (WANG et al., 2001; NASCIMENTO et al., 2002; BARTOLOMÉ et al., 2003; FRANCIS et al., 2003).

Dragone, Mussatto e Silva (2007) utilizaram o bagaço de malte como fonte de imobilização de leveduras no processo de produção de cerveja. Concluíram que este material é promissor para imobilização destes microrganismos, pois tem capacidade de imobilizar as células, além do preparo simples e vantagens econômicas em relação a outros produtos comerciais.

Além disso, Carvalheiro et al. (2004 a e b); Kabel et al. (2002) demonstram a extração de compostos de interesse comercial do bagaço de malte. Por processamento hidrotérmico, hidrolítico e enzimático, foi possível obter misturas de oligossacarídeos de diferentes pesos moleculares, já na hidrólise com ácido sulfúrico obtiveram açúcares, principalmente xilose e arabinose. E por tratamento enzimático foram obtidos açúcares (glicose, xilose) e ácidos hidroxicinâmicos (ferúlico e p-cumárico).

### 3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS AGENTES ANTIOXIDANTES

Os compostos fenólicos são substâncias presentes naturalmente no reino vegetal e seus derivados. Em sua estrutura possuem no mínimo um anel aromático, com uma ou mais hidroxilas como grupos funcionais abrangendo cerca de 8000 compostos com diferentes estruturas químicas. Possuem influência direta sobre os parâmetros sensoriais dos alimentos. Atualmente é a substância de atividade biológica mais estudada, pois os compostos fenólicos conferem aos alimentos e organismos em que estão presentes, propriedades antioxidantes (STALIKAS, 2007; FERNANDEZ-PANCHON et al., 2008; SOUSA et al., 2016).

Segundo a revista Food Ingredients do Brasil (FIB, 2009) os antioxidantes é um conjunto heterogêneo de substâncias que tem a capacidade de bloquear o efeito danoso dos radicais livres, ou seja, impede a oxidação de outras substâncias químicas.

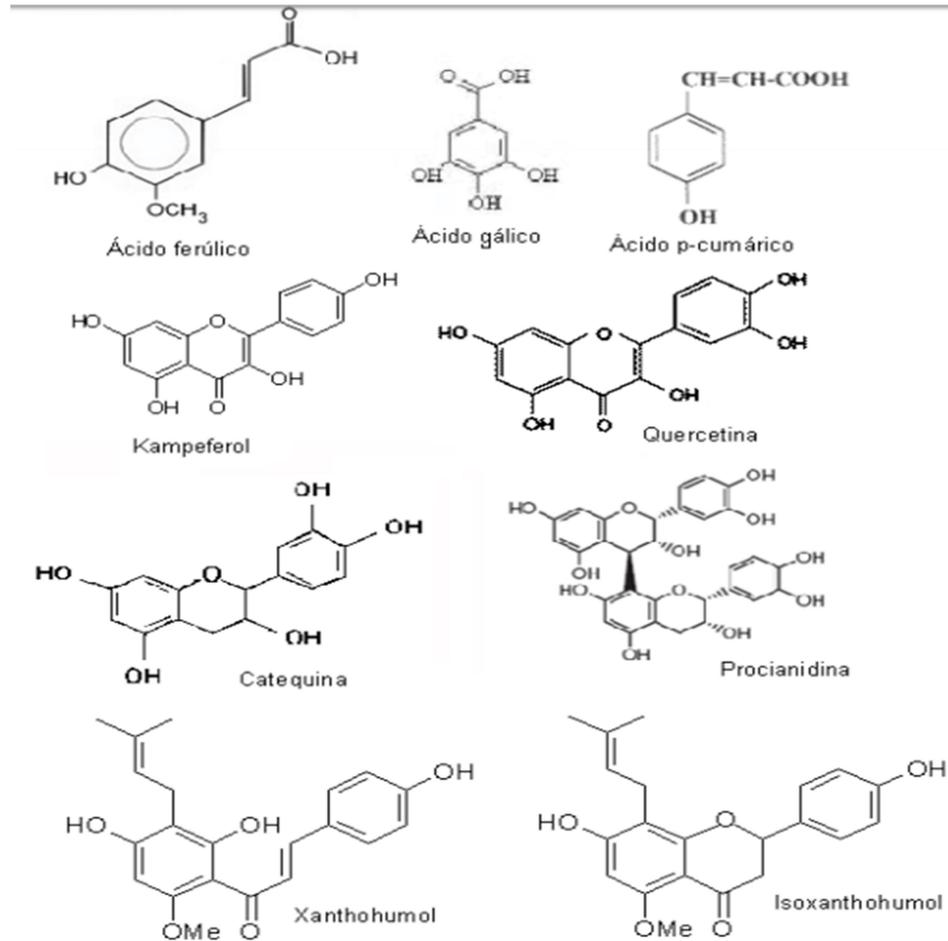
Os radicais livres são átomos que possuem um ou mais elétrons não pareados (PALLI, 2004). Essa configuração (possui número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica<sup>1,2</sup>) faz com que as moléculas sejam altamente reativas. Também conhecidas como espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio, esses radicais encontram-se envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Porém, quando em excesso interferem negativamente nas funções fisiológicas do organismo, gerando patologias (PALLI, 2004; BARREIROS e DAVID, 2006; FERNANDEZ-PANCHON et al., 2008). Além dos danos à saúde, os radicais livres também atuam negativamente nos aspectos tecnológicos dos alimentos, oxida óleos e gorduras o que diminui a qualidade sensorial e nutricional dos mesmos (BARREIROS e DAVID, 2006).

Segundo Damodaram, Parkin e Fennema (2010) os vegetais e cereais contêm diversos compostos fenólicos, sendo que os mais ativos e frequentemente encontrados são da classe dos flavonoides. Todas as classes de fenólicos apresentam a capacidade de sequestrar os radicais livres. Os principais fatores que influenciam a atividade sequestradora são: posição e grau de hidroxilação, polaridade, solubilidade, potencial de redução, estabilidade do radical fenólico e grau de processamento do produto.

Os níveis de fenólicos no material vegetal variam de acordo com maturidade da planta, tipo de tecido, condições de crescimento, condições de armazenamento e processamento (OLIVEIRA et al., 2009). Como já exposto durante a revisão, o bagaço de malte é o principal subproduto da indústria cervejeira, e esse subproduto é rico em compostos fenólicos que possui ação antioxidante (SOUSA et al., 2016).

Segundo Freitas et al. (2006) os compostos polifenóis desempenham um papel importante nas características sensoriais (cor, aroma e sabor) e nutricionais da cerveja. Estes compostos são importantes devido à sua influência na estabilidade coloidal da cerveja, sendo responsável pela turbidez originada pela interação com as proteínas. Os principais polifenóis presentes na cerveja provêm essencialmente da casca de cevada malteada e do lúpulo (Figura 1). São ácidos fenólicos e flavonoides (VARGAS, HOELZEL e ROSA, 2008).

A capacidade antioxidante pode ser avaliada por testes químicos, alguns deles determinam a capacidade antioxidante por sequestro de espécies reativas geradas no meio reacional. Outros avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica por meio de quantificação dos produtos da reação (OLIVEIRA et al., 2009; HAMINIUK et al., 2012).



**Figura 1 – Estruturas químicas de alguns compostos fenólicos encontrados na cerveja**

Fonte : SIQUEIRA, Priscila Becker; BOLINI, Helena Maria André; MACEDO, Gabriela Alves, 2008

### 3.5 MÉTODO QUÍMICO DE QUANTIFICAÇÃO

Um dos métodos mais utilizados para verificar a capacidade antioxidante é o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) (OLIVEIRA et al., 2009), baseia-se na captura do radical por antioxidantes (Figura 2), gerando um decréscimo da absorbância a 515 nm, onde a amostra passa de uma cor violeta escura para violeta claro, podendo até chegar a um leve amarelo (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Segundo Oliveira et al. (2009) isso corre por ação de uma espécie radicalar (R), o DPPH é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH

remanescente no meio reacional. O mecanismo de reação é baseado em transferência de elétrons. O método é influenciado pelo solvente e pelo pH das reações e é considerado fácil e útil para análise de substâncias puras e amostras complexas (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2009).

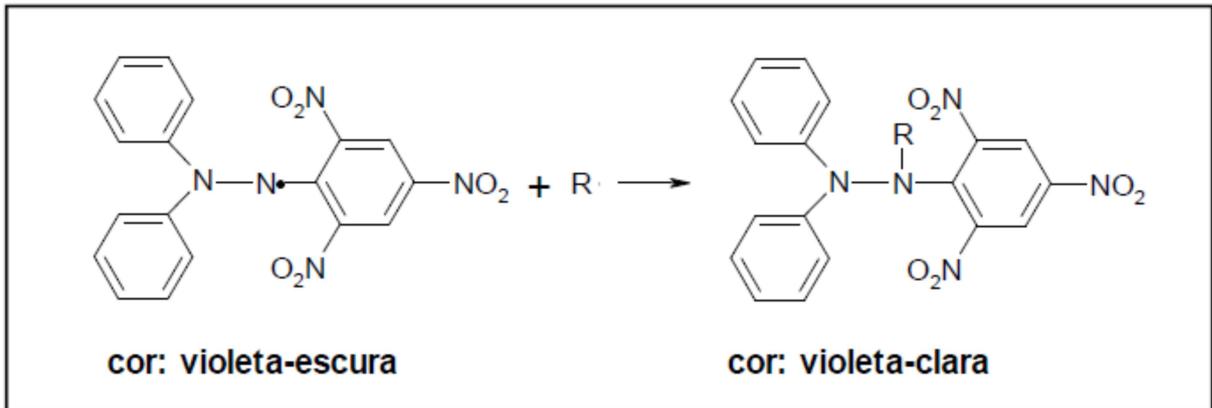


Figura 2 – Estabilização do radical livre DPPH

Fonte: Brand-Williams et al., 1995

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAS

O bagaço de malte foi coletado junto à um produtor de cerveja da cidade de Medianeira – Paraná logo após a realização de uma “receita” de cerveja realizada pelo mesmo. O bagaço de malte foi então seco em estufa de circulação de ar e em seguida triturado em moinho de facas da marca *Solab* modelo *SL 31*, a ponto de o bagaço de malte se transformar em farinha.

A determinação da Atividade Antioxidante (AA) foi feita em farinha de bagaço de malte com solvente álcool metílico 2:1 e o reagente determinante da AA utilizado foi o 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), que é um pó cristalino de cor escura composto de moléculas de radicais livres estáveis.

A obtenção do extrato de malte foi realizada com agitação em ultrassom da marca *Elma*, modelo *ElmaSonic P*, vórtex modelo *L S Logen* e centrífuga da marca *EduTec*, modelo *EEQ – 9004/B*.

A leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro da marca *PerkinElmer*, modelo *Lambda XLS*.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

O material vegetal foi coletado junto à um produtor de cerveja artesanal situado na cidade de Medianeira – PR.

#### 4.2.2 TRATAMENTO DA AMOSTRA BRUTA DE BAGAÇO DE MALTE

Após ser coletado junto ao produtor de cerveja artesanal, o material foi seco em estufa com circulação de ar à 45°C por um período de 24 horas e em seguida triturado em moinho de facas para que logo fossem realizadas as extrações.

#### 4.2.3 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DO BAGAÇO DE MALTE E DELINEAMENTO FATORIAL

Foi utilizado um delineamento fatorial  $2^3$ , totalizando 11 corridas em duplicada ( Tabela 1 ), para avaliar os efeitos das variáveis tempo de agitação no ultrassom (10 e 30 minutos), massa da amostra de farinha seca de bagaço de malte (0,6 e 1,2 gramas) e número de extrações (1 e 3) e seus respectivos pontos centrais ( 20 min, 0,8g e 2 extrações), sobre a atividade antioxidante. As variáveis independentes foram representadas por X1 o tempo de agitação (min), a variável X2 a massa da amostra (g) e a variável X3 é o número de extrações (nº extr) e a variável dependente utilizada foi a porcentagem de atividade antioxidante ou inibição da oxidação, através do método de sequestro do radical DPPH.

**Tabela 1 - Planejamento Fatorial – níveis das variáveis independentes, tempo de agitação, massa de farinha de bagaço de malte e número de extrações**

**C – ensaios com pontos centrais**

<b>Ensaio</b>	<b>X1 (T agitação (min))</b>	<b>X2 (Massa (g))</b>	<b>X3 (Nº Extr.)</b>
<b>1</b>	-1 (10)	-1 (0,6)	-1 (1)
<b>2</b>	1 (30)	-1 (0,6)	-1 (1)
<b>3</b>	-1 (10)	1 (1,2)	-1 (1)
<b>4</b>	1 (30)	1 (1,2)	-1 (1)
<b>5</b>	-1 (10)	-1 (0,6)	1 (3)
<b>6</b>	1 (30)	-1 (0,6)	1 (3)
<b>7</b>	-1 (10)	1 (1,2)	1 (3)
<b>8</b>	1 (30)	1 (1,2)	1 (3)
<b>9 - C</b>	0 (20)	0 (0,8)	0 (2)
<b>10 - C</b>	0 (20)	0 (0,8)	0 (2)
<b>11 - C</b>	0 (20)	0 (0,8)	0 (2)

Fonte: Elaborada pelo autor

O solvente escolhido para a extração foi o metanol, onde 0,6, 0,8 ou 1,2 g da farinha de bagaço de malte foram adicionados à 3 mL de metanol/água (2:1) e em seguida agitados por 5 minutos no Vórtex e 10 , 20 ou 30 minutos no ultrassom à

frequência de 80 Hz, e ainda centrifugadas por 15 minutos à 3600 rpm. O processo foi realizado 1, 2 ou 3 vezes (número de extrações) conforme delineamento experimental demonstrado na Tabela 1. Na sequência os extratos foram armazenados em frascos hermeticamente fechados, sob o abrigo da luz e em freezer à -5°C para posteriores análises.

As leituras das absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro, após o período de repouso. Através das absorbâncias, calculou-se a Atividade Antioxidante expressa em %AA.

#### 4.2.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva de calibração foi obtida pelo método DPPH (Brand-Williams et al., 1995). Este método foi modificado por Sanches Moreno et al. (1988) e adaptado/modificado nos laboratórios da Embrapa Agroindústria Tropical.

A partir da solução inicial de DPPH (60 µM), preparou-se em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de 10 µM a 50 µM conforme Tabela 2.

**Tabela 2 – soluções de concentrações de DPPH (10 a 60 µM)**

<b>Solução</b>	<b>DPPH</b>	<b>Álcool metílico</b>	<b>Concentração final</b>
<b>Nº</b>	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>	<b>de DPPH (µM)</b>
1	0	10	0
2	1,7	8,3	10
3	3,3	6,7	20
4	5	5	30
5	6,7	3,3	40
6	8,3	1,7	50
7	10	0	60

Fonte: Elaborada pelo autor

Utilizou-se o solvente como branco, para calibrar o equipamento.

Preparou-se também um tubo de negativo (solvente + DPPH (sem amostra)) que serviu como solução referência.

#### 4.2.5 ATIVIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH EXPRESSO EM %AA

A atividade sequestrante do radical DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams (1995), com algumas modificações. Para avaliação da atividade antioxidante, as amostras reagem com o radical estável DPPH em uma solução de metanol 2:1.

A mistura de reação é constituída por 0,1 da solução do extrato com 3,9 mL do radical DPPH 60 µM. Após a adição do radical DPPH, manteve-se as amostras no escuro por 30 minutos para que atingissem um estado estacionário estabilizado, onde a amostra já teria atingido toda sua capacidade de captura do radical DPPH.

Utilizou-se o solvente álcool metílico 2:1 como branco para calibrar o equipamento.

Realizou-se, então, as leituras das amostras em espectrofotômetro à 515 nm. Aguardou-se um tempo para ver se a absorbância estava estabilizada ou a amostra ainda estava capturando os radicais de DPPH.

A porcentagem de inibição da oxidação foi calculada pela Equação (1)

$$\% \text{Atividade Antioxidante} = 100 - \frac{\{(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}) \times 100\}}{A_{\text{controle}}}$$

*Equação 1*

Onde:

$A_{\text{amostra}}$  = absorbância da solução com amostra e DPPH;

$A_{\text{branco}}$  = absorbância do solvente;

$A_{\text{controle}}$  = absorbância da solução referência (DPPH e metanol 2:1).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 EXTRAÇÃO

O bagaço de malte (Figura 3) foi seco em estufa com circulação de ar à 45°C durante 24 horas, triturado em moinho de facas. Em seguida este foi submetido à extração de compostos bioativos segundo delineamento proposto na Tabela 4.

**Figura 3 – Bagaço de Malte seco e moído**



Fonte: Elaborada pelo autor

Após realizadas as extrações, guardou-se as amostras em freezer à - 5°C. Em seguida fez-se as leituras das soluções de DPPH (Tabela 2) no espectrofotômetro para obtenção das respectivas absorbâncias e curva padrão (Tabela 3).

## 5.2 CURVA DE CALIBRAÇÃO

Após obtidas as concentrações de 10  $\mu\text{M}$  a 50  $\mu\text{M}$ , realizou-se as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro a 515 nm para cada uma das concentrações de DPPH (Tabela 3) afim de se obter a curva de calibração e equação da reta. A partir destes dados pode-se construir a curva de calibração.

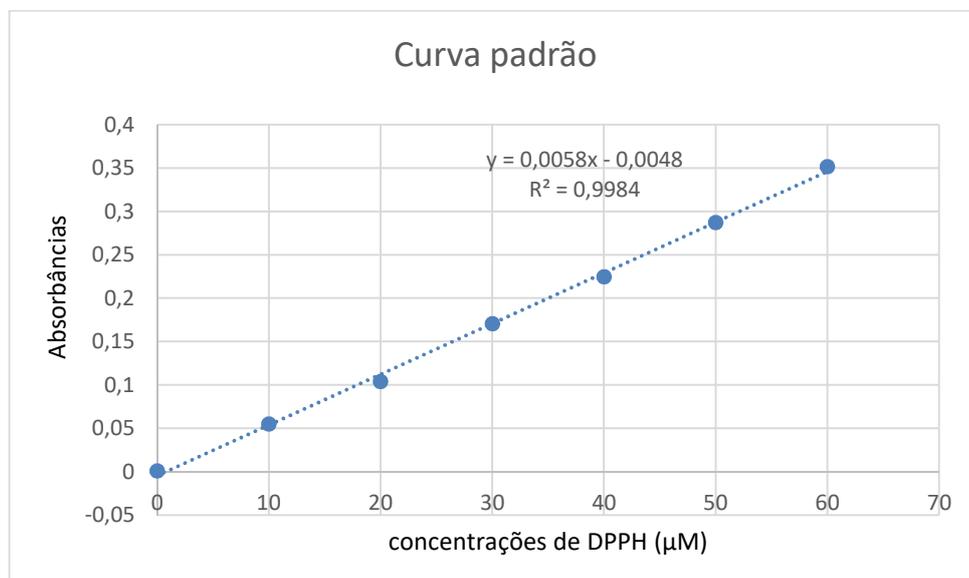
**Tabela 3 – Absorbâncias das diluições de DPPH (10 a 60  $\mu\text{M}$ )**

<b>CURVA PADRÃO</b>	x	Y
Ponto curva	Concentração $\mu\text{M}$ DPPH	Absorbância 515 nm
1	0	0,001
2	10	0,055
3	20	0,104
4	30	0,1705
5	40	0,2245
6	50	0,287
7	60	0,3515

Fonte: Elaborada pelo autor

Plotou-se as concentrações de DPPH ( $\mu\text{M}$ ) no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y (Tabela 3) e obteve-se a curva de calibração Figura 4).

**Figura 4 – Curva de calibração - DPPH ( $\mu\text{M}$ ) x Absorbância ;  $R^2 = 0,9984$**



Fonte: Elaborada pelo autor

Ao observarmos esta curva é possível perceber, por intermédio dos resultados, a formação de uma 'reta' que condiz com a linearidade, passando o significado de confiança. A curva-padrão corresponde à relação gráfica entre os valores de absorvância e os de concentração. Com base na análise gráfica é possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorvância em concentração.

### 5.3 ANÁLISES DAS AMOSTRAS EM ESPECTROFOTÔMETRO

Logo após, realizou-se as leituras das absorvâncias das amostras. A atividade antioxidante (AA) nos respectivos extratos estão descritos na tabela 4.

**Tabela 4 – Resultados referentes ao delineamento fatorial para AA pelo método DPPH**

**C – ensaios com pontos centrais**

<b>Ensaio</b>	<b>X1 (min)</b>	<b>X2 (g)</b>	<b>X3 (nº EXtr)</b>	<b>%AA</b>
<b>1</b>	(-1) 10	(-1) 0,6	(-1) 1	15,3
<b>2</b>	(+1) 30	(-1) 0,6	(-1) 1	21,2
<b>3</b>	(-1) 10	(+1) 1,2	(-1) 1	21,0
<b>4</b>	(+1) 30	(+1) 1,2	(-1) 1	22,4
<b>5</b>	(-1) 10	(-1) 0,6	(+1) 3	31,6
<b>6</b>	(+1) 30	(-1) 0,6	(+1) 3	42,2
<b>7</b>	(-1) 10	(+1) 1,2	(+1) 3	44,1
<b>8</b>	(+1) 30	(+1) 1,2	(+1) 3	29,4
<b>9 - C</b>	( 0) 20	( 0) 0,8	( 0) 2	29,1
<b>10 - C</b>	( 0) 20	( 0) 0,8	( 0) 2	29,4
<b>11 - C</b>	( 0) 20	( 0) 0,8	( 0) 2	31,6

Tabela 4 – Resultados referentes ao delineamento fatorial para AA pelo método DPPH

C – ensaios com pontos centrais

Ensaio	X1 (min)	X2 (g)	X3 (nº EXtr)	%AA
12	(-1) 10	(-1) 0,6	(-1) 1	19,0
13	(+1) 30	(-1) 0,6	(-1) 1	24,3
14	(-1) 10	(+1) 1,2	(-1) 1	23,2
15	(+1) 30	(+1) 1,2	(-1) 1	21,8
16	(-1) 10	(-1) 0,6	(+1) 3	28,8
17	(+1) 30	(-1) 0,6	(+1) 3	37,4
18	(-1) 10	(+1) 1,2	(+1) 3	26,1
19	(+1) 30	(+1) 1,2	(+1) 3	39,7
20 - C	(0) 20	(0) 0,8	(0) 2	30,5
21 - C	(0) 20	(0) 0,8	(0) 2	35,4
22 - C	(0) 20	(0) 0,8	(0) 2	31,6

Fonte: Elaborada pelo autor

O menor valor de AA foi encontrado no Ensaio 1 onde se fez apenas uma extração utilizando-se 0,6 g de farinha de bagaço de malte submetidos à 10 minutos no ultrassom. Já o melhor resultado de AA identificou-se no Ensaio de número 7 onde 1,2 g de farinha de bagaço de malte foi submetida à 10 minutos de ultrassom em 3 extrações, ou seja, o procedimento foi realizado 3 vezes seguidas com o intuito de extrair o máximo de compostos bioativos presentes na amostra.

Somente à nível de comparação, Cansian (2010) constatou em seu trabalho que o óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*) apresentou, no seu melhor resultado 85,69%AA.

Também fez-se, no presente trabalho, a análise de uma amostra de farinha para averiguação da metodologia, e constatou-se uma resposta de 98,9%AA, ou seja, a amostra absorveu praticamente todo o radical DPPH, enquanto que, com o bagaço de malte conseguiu-se apenas 44,1%AA na melhor das respostas.

Para fins de comparação, dentro do método do DPPH foi calculada a porcentagem de sequestro de radical livre (%SRL), pela equação  $\% \text{SRL} = (A_c - A_m) \times 100/A_c$ , onde  $A_c$  (Abs do Controle) e  $A_m$  (Abs da amostra)), que mensura a capacidade de captação do radical livre DPPH exibido pela amostra.

Mariana M. P. Natividade (2010), ao analisar a atividade antioxidante em três qualidades de sucos de uva: suco de uva Isabel, suco Bordô e suco Blend encontrou os seus melhores resultados: 72,9 %SRL; 54,68 %SRL e 53,1%SRL respectivamente, enquanto no presente trabalho, aplicando a mesma equação após a realização das leituras das absorbâncias, chegou-se à apenas 43,76 %SRL.

#### 5.4 ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA)

A análise de superfície de resposta foi realizada sobre os dados do delineamento fatorial  $2^3$ , tendo como fatores, número de extrações, tempo de agitação no ultrassom e massa de farinha de bagaço de malte.

Os efeitos de cada variável independente foram analisados pelo teste t e por análise de variância (ANOVA). A Tabela 5 mostra a análise de variância (ANOVA) utilizada para validação estatística e verificação do modelo, onde é possível verificar que na grande maioria dos casos os efeitos dos fatores sobre as variáveis dependentes não foram significativos, a partir da probabilidade de significância (p-valor) Tabela 5, é possível verificar, que apenas o fator *nº de extrações* foi relevante e mais eficiente que as outras variáveis, o que pode se comprovar pelo *p valor* = 0,000017, o único abaixo dos 0,05 que corresponde ao intervalo de confiança.

**Tabela 5 – Análise de Variância (ANOVA) para as variáveis dependentes em AA por DPPH**

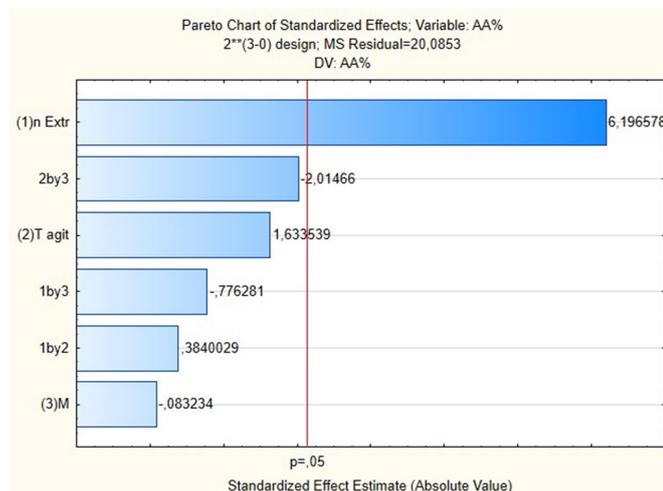
Factor	ANOVA; Var.:AA%; R-sqr=,75362; Adj:,65507 (Design: 2**(3-0) design (2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) in Planejamento 2 <sup>2</sup> Tcc) in Planejamento 2 <sup>3</sup> Tcc) 2**(3-0) design; MS Residual=20,0853 DV: AA%				
	SS	df	MS	F	p
(1)n Extr	771,227	1	771,2269	38,39758	0,000017
(2)T agit	53,597	1	53,5966	2,66845	0,123164
(3)M	0,139	1	0,1391	0,00693	0,934766
1 by 2	2,962	1	2,9617	0,14746	0,706365
1 by 3	12,104	1	12,1036	0,60261	0,449651
2 by 3	81,523	1	81,5234	4,05886	0,062230
Error	301,279	15	20,0853		
Total SS	1222,831	21			

Fonte: Elaborada pelo autor

## 5.5 ANÁLISE DOS EFEITOS DAS VARIÁVEIS PELO GRÁFICO DE PARETO

Os efeitos de cada variável independente foram calculados pela análise de variância e exemplificados pelo gráfico de Pareto, conforme pode ser observado pela Gráfico 1.

**Gráfico 1 – Gráfico de Pareto para farinha de bagaço de malte e variáveis dependentes: (1) nº extrações; (2) tempo de agitação; (3) massa e (2by3; 1by3 e 1by2) interação entre as variáveis. Alinha vermelha destaca o nível de corte para a significância.**

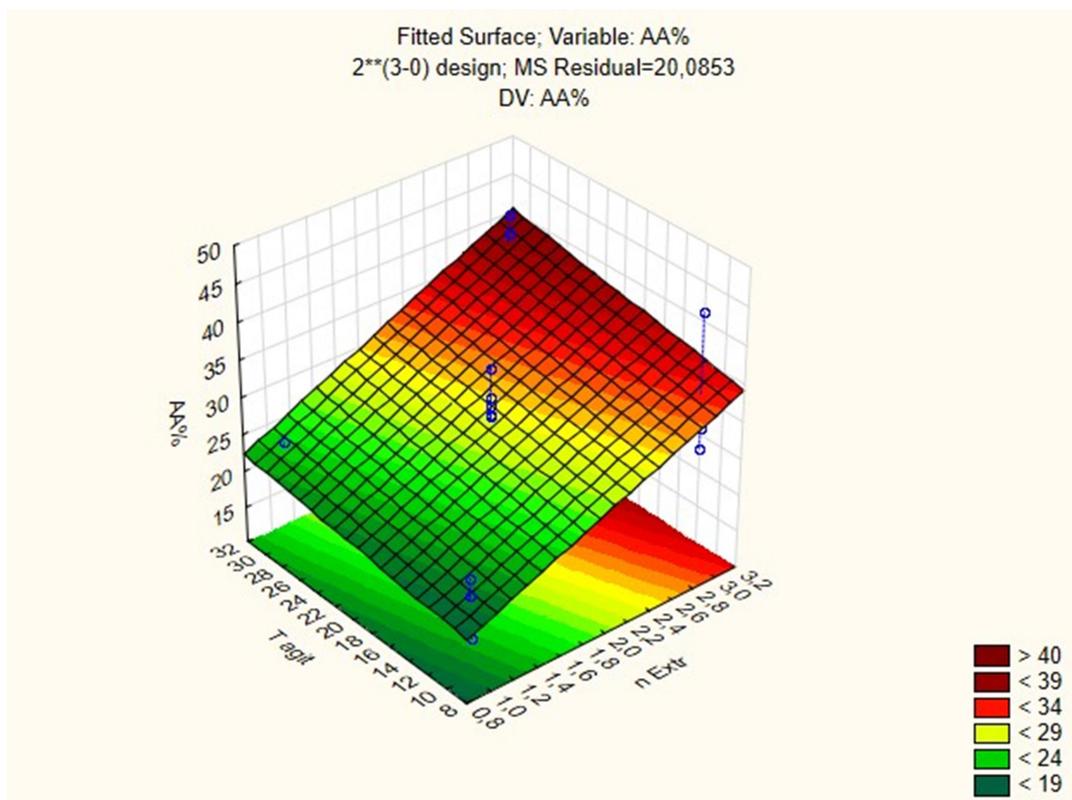


Fonte: Elaborado pelo autor

Pelo gráfico de Pareto pode-se chegar a conclusão que os efeitos significativos para Atividade Antioxidante (AA) em relação à captura de radicais livres de DPPH teve um efeito positivo e significativo apenas o fator número de extrações, o restante das variáveis apresentaram um efeito negativo e não significativo sobre a atividade antioxidante, como vê-se no gráfico 1, somente o fator número de extrações se apresentou com valor positivo acima, ou à direita, da linha vermelha que destaca o nível de corte para a significância.

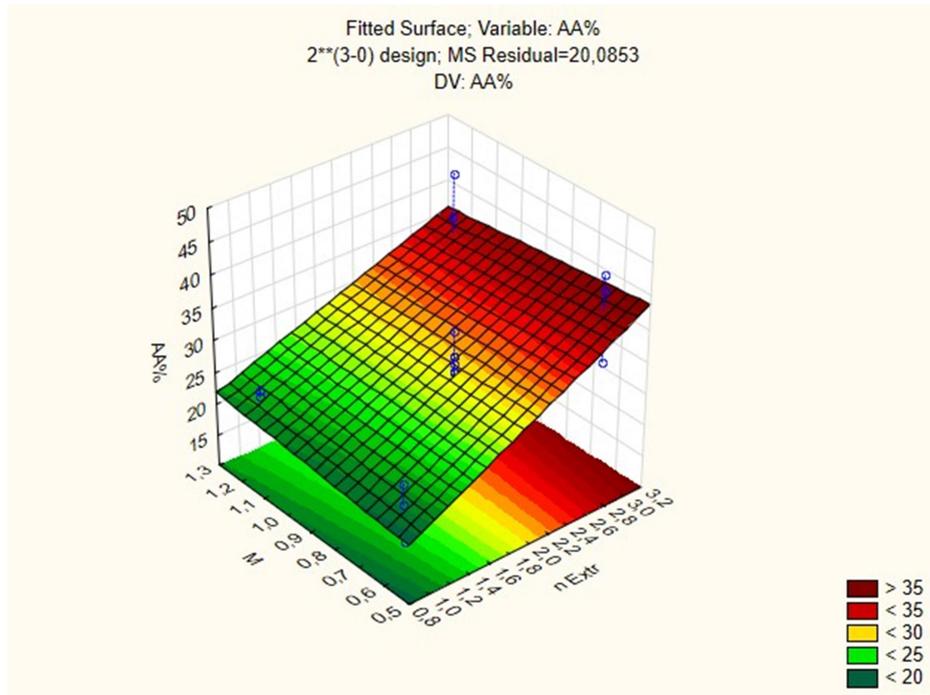
## 5.6 SUPERFÍCIES DE RESPOSTA

O modelo de regressão linear múltipla pode gerar superfícies de resposta. A superfície de resposta da variável DPPH, em função dos fatores número de extrações, tempo de agitação e massa da amostra pode ser vistos nos gráficos 2, 3 e 4.



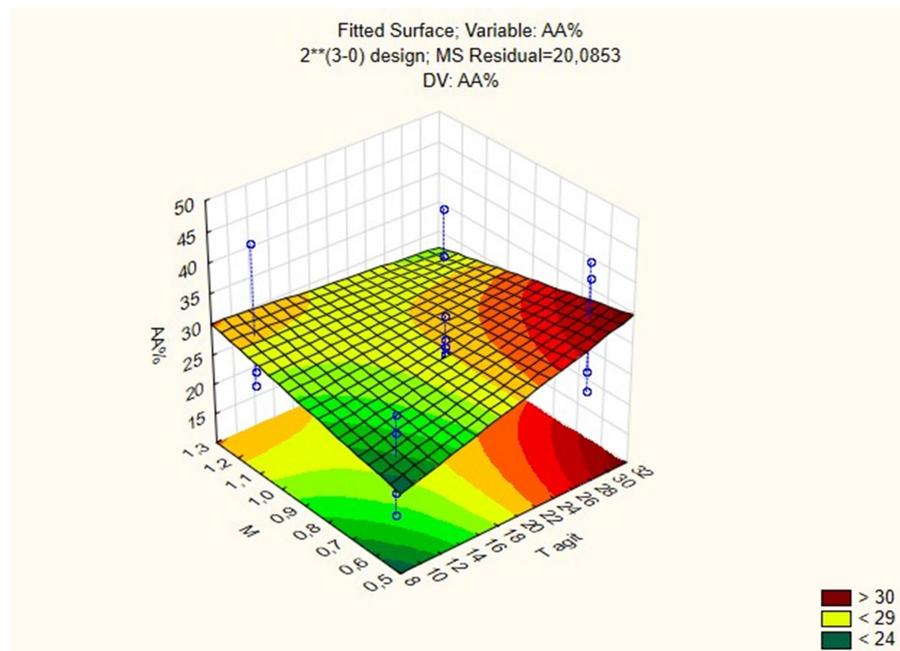
**Gráfico 2 – gráfico de superfície referente à resposta Atividade Antioxidante em função dos fatores: Tempo de agitação x Número de Extrações**

Fonte: Elaborado pelo autor



**Gráfico 3 – gráfico de superfície referente à resposta Atividade Antioxidante em função dos fatores: Massa da amostra x Número de Extrações**

Fonte: Elaborado pelo autor



**Gráfico 4 – gráfico de superfície referente à resposta Atividade Antioxidante em função dos fatores: Massa da amostra x Tempo de agitação**

Fonte: Elaborado pelo autor

Observando as superfícies de resposta para o extrato de malte (gráficos 2, 3 e 4), percebe-se que a variável que obteve maior interferência nos resultados foi a

*número de extrações* como podemos acompanhar nos gráficos 2 e 3, onde constatamos que a partir de 2 extrações é que se começa a notar algum resultado significativo.

Para tentar melhor os resultados pode-se realizar no futuro um *planejamento composto central rotacional (DCCR)*, que consiste em um grupo de procedimentos , estatísticos e matemáticos, que podem ser usados no estudo das inter-relações entre uma ou mais respostas (variáveis dependentes) com inúmeros fatores (variáveis independentes). Essa técnica estatística baseada no emprego de planejamento fatoriais, tem sido usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos industriais.

Aline Rosa (2014) em seu estudo analisou a atividade antioxidante utilizando também o método DPPH, porém expressou-a em  $EC_{50}$ , que é a quantidade de antioxidante necessária para diminuir em 50% a concentração inicial de DPPH da solução. Dessa forma, quanto menor o valor do  $EC_{50}$ , menor terá sido o valor do extrato utilizado para reduzir o radical DPPH e maior a sua atividade antioxidante. A melhor resposta de atividade antioxidante para o bagaço de malte conseguida por Aline foi de  $EC_{50} = 6,62 \pm 0,09$  (mg/mL).

Aline Rosa (2014) afirma que “não foi encontrado na literatura científica estudos que determinem o  $EC_{50}$  do bagaço de malte pela metodologia de DPPH. Ao comparar os resultados obtidos na análise de atividade antioxidante por DPPH para o bagaço de malte com outros resíduos agroindustriais como os cinco bagaços de uvas tintas (Nero d’Avola; Nerello Mascalese; Nerello Cappuccio; Frappato e Cabernet Sauvignon) estudado por Ruberto et al., (2007) onde este obteve valores de  $EC_{50}$  que variavam de 0,014 - 0,039 mg/mL e com diferentes extratos do bagaço de uva Cabernet Sauvignon estudados por Campos et al., (2008) que observou  $EC_{50}$  variando de 0,013 - 0,0108 mg/mL, pode-se dizer que o bagaço de malte possui uma menor atividade antioxidante que estes resíduos, porém essa atividade ainda é significativa.”

## 6 CONCLUSÃO

Ao final desse estudo, conclui-se que o extrato de malte contém uma taxa menor de substâncias com atividades antioxidantes, quando comparado com outros vegetais e frutas, como a uva. Isso se deve em parte devido ao malte ser um rejeito da produção de cerveja, onde, durante o processo de produção o mesmo passa por temperaturas de até 80°C o que pode fazer com que se degrade parte do seu potencial antioxidante, e também pelo fato de que parte dessas substâncias que possuem essa característica é transferida para a cerveja durante a produção.

Através do delineamento fatorial conclui-se que, para as extrações realizadas, a melhor condição de extração de compostos bioativos em extrato de malte, dentre as combinações testadas de massa de bagaço de malte, tempo de agitação em ultrassom e número de extrações para atividade antioxidante, ocorreu em 1,2 g de farinha de bagaço de malte quando submetida à 10 minutos de ultrassom em 3 extrações subsequentes, chegou-se à um resultado de 44,1 %AA.

Ainda o delineamento fatorial nos permitiu perceber que a variável *número de extrações* dentre as variáveis escolhidas no estudo foi única que teve uma relevância positiva e significativa para a melhora dos resultados nas extrações quanto à Atividade Antioxidante (AA).

Mesmo o bagaço de malte não apresentando um alto teor antioxidante, o grande volume de bagaço de malte que é descartado pós-fabricação da cerveja, é prudente aprofundar estudos para que se verifique a viabilidade econômica comercial de reaproveitamento do bagaço de malte para extração de compostos antioxidantes, além do mais, aplicando um DCCR (delineamento composto central rotacional) ainda é possível que se consiga melhorar a eficiência das extrações.

## REFERÊNCIAS

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

ARAÚJO, L.F.; DIAS, M.V.C.; BRITO, E.A. de; JÚNIOR, S.O. Enriquecimento proteico de alimentos por levedura em fermentação semissólida: alternativa na alimentação animal. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**. v.3, n.3, p.47-53, 2009.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, p.113-123, 2006.

BARTOLOMÉ, B.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; SANCHO, A.I.; DÍEZ, N.; FERREIRA, P.; SOLIVERI, J.; COPA-PATIÑO, J.L. Growth and release of hydroxycinnamic acids from brewer's spent grain by *Streptomyces avermitilis* CECT 3339. *Enzyme and Microbial Technology*, v.32, p.140-144, 2003.

BARTOLOMÉ, B.; SANTOS, M.; JIMÉNEZ, J.J.; DEL NOZAL, M.J.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C. Pentoses and hydroxycinnamic acids in brewer's spent grain. *Journal of Cereal Science*, v.36, p.51-58, 2002.

BORSATO, D.; DALL'ANTONIA, L.H.; GUEDES, C.L.B.; MAIA, E.C.R.; de FREITAS, H.R. de; MOREIRA, I.; SPACINO, K.R. Aplicação do delineamento simplex-centroide no estudo da cinética da oxidação de biodiesel B100 em mistura com antioxidantes sintéticos. **Quím. Nova**, v.33, n.8, p.1726-1731, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidante activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, v.22, p. 25-30, 1995.

CARVALHEIRO, F.; DUARTE, L.C.; MEDEIROS, R.; GÍRIO, F.M. Optimization of brewery's spent grain dilute-acid hydrolysis for the production of pentose-rich culture media. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.113-116, p.1059-1072, 2004a.

CARVALHEIRO, F.; ESTEVES, M.P.; PARAJÓ, J.C.; PEREIRA, H.; GÍRIO, F.M. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresource Technology*, v.91, p.93-100, 2004b.

CARVALHO, B.M.; BENTO, C.V.; SILVA, J.B.A. Elementos Biotecnológicos Fundamentais no Processo Cervejeiro: 1ª parte – As Leveduras. **Revista Analytica**, n.25, 2006.

CERVBRASIL, **Notícia**. Disponível em <<http://www.cervbrasil.org.br>>. Acesso em: 10 set. 2017.

CERVESIA. **Tecnologia Cervejeira**. (2017). Disponível em: <<https://www.cervesia.com.br/filtracao/100-tecnologia-ERVEJEIRA.html>>. Acesso em: 15 out. 2017.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira de grãos 2016-2017**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17\\_04\\_12\\_14\\_08\\_06\\_relatorio\\_safra\\_graos\\_rn\\_2017\\_7o\\_lev.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_04_12_14_08_06_relatorio_safra_graos_rn_2017_7o_lev.pdf)>. Acesso em: 10 out. 2017.

CORDEIRO, L.G.; EL-AOUAR, A.A.; GUSMÃO, R.P. Caracterização do bagaço de malte oriundo de cervejarias. **Revista Verde**, Mossoró/RN, v.7, n.3, p.20-22, 2012.

DAMODARAM, S.; PARKIN, L.K.; FENNEMA, R.O. **Química de Alimentos de Fennema**. 4º Ed. Rev. e Atualizado, 2010, 1088p.

DOBRZANSKI, J.; DIAS, L.F.; AYALA, L.A.C. **Caracterização e utilização do bagaço de cerveja em panificação**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Ponta Grossa-PR, v.2, n.7, 2008.

DRAGONE, G.; MUSSATTO, 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 Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n.27, p.37-40, 2007.

EHRHARDT, P.; SASSEN, H. **A Cevada**. Senai-DR/RJ, Vassouras, 1995, 33p.

FERNANDEZ-PANCHON, M.S.; VILLANO, D.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA-PARRILLA, M.C. Antioxidant activity of phenolic compounds: from *in vitro* results to *in vivo* evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Boca Raton, v.48, p.649-671, 2008.

FIB – FOOD INGREDIENTES DO BRASIL. 2009. Os antioxidantes. Disponível em: <[www.revista-fi.com](http://www.revista-fi.com)>. Acesso em: 20 out. 2017.

FRANCIS, F.; SABU, A.; NAMPOOTHIRI, K.M.; RAMACHANDRAN, S.; GHOSH, S.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Use of response surface methodology for optimizing process parameters for the production of  $\alpha$ -amylase by *Aspergillus oryzae*. *Biochemical Engineering Journal*, v.15, p.107-115, 2003.

FREITAS, G.L. de; KUSKOSKI, E.M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante de diferentes cervejas aplicando os métodos ABTS e DPPH. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.17, n.3, p.303-307, 2006.

FURIGO, A.; LAZZARI, M.L.; VIANA, P.J.; REFFATTI, F.; BAGNARIOILLI, B.; **Apostila Produção de cerveja**. Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

HAMINIUK, C.W.I.; MACIEL, G.M.; PLATA-OVIEDO, M.S.V.; PERALTA, R.M. Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science and Technology*. v.47, p.2023–2044, 2012.

KABEL, M.A.; CARVALHEIRO, F.; GARROTE, G.; AVGERINOS, E.; KOUKIOS, E.; PARAJÓ, J.C.; GÍRIO, F.M.; SCHOLS, H.A.; VORAGEN, A.G.J. Hydrothermally treated xylan rich by-products yield different classes of xylo-oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, v.50, p.47-56, 2002.

LIMA, U.A. **Matérias-primas dos alimentos**. São Paulo: Ed Blucher, 2010. 402p.

LIZARAZO, D.X.C. Parâmetros físico-químicos, germinativos e microestruturais de qualidade em cultivares brasileiros de cevada cervejeira. 71f. Dissertação (Mestre

em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2003.

MATHIAS, T.R.S.; MELLO, P.P.M. de; SERVULO, E.F.C. Caracterização de resíduos cervejeiros. Em: **Anais do XX Congresso Brasileiro de Eng. Quím.**, Florianópolis-SC, 2014, 8p.

MAYER, F.D.; CASTELLANELLI, C.; HOFFMAN, R. Geração de energia através da casca de arroz: uma análise ambiental. Em: **Anais do XXVII Encontro Nacional de Engenharia de Produção (XXVII ENEGEP)**, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 2007.

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

NAKANO, V.M. Teoria da Fermentação e Maturação. **Anais...** Brasília: AMBEV, 2000.

NASCIMENTO, R.P.; COELHO, R.R.R.; MARQUES, S.; ALVES, L.; GÍRIO, F.M.; BON, E.P.S.; AMARAL-COLLAÇO, M.T. Production and partial characterisation of xylanase from *Streptomyces* sp. strain AMT-3 isolated from Brazilian cerrado soil. *Enzyme and Microbial Technology*, v.31, p.549-555, 2002.

OLIVEIRA, A.C. de; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quím. Nova**, v.32, n.3, p.689-702, 2009.

ÖZTÜRK, S.; ÖZBOY, Ö.; CAVIDOĞLU, I.; KÖKSEL, H. Effects of brewer's spent grain on the quality and dietary fibre content of cookies. *Journal of the Institute of Brewing*, v.108, p.23-27, 2002.

PALLI, D. The effects of diet on DNA bulky adduct levels are strongly modified by GSTM1 genotype: a study on 634 subjects. *Carcinogenesis*. v.25, n.4, p.577-584, 2004.

REBELLO, F.F.P. Produção de cerveja. **Rev. Agrogeoambiental**, p.145-155, 2009.

SANTOS, M.; JIMENEZ, J.J.; BARTOLOME, B.; GOMEZ-CORDOVES, C.; NOZAL, M. J. Variability of brewer's spent grain within a brewery. *Food Chemistry*, n.80, p.17-21, 2003.

SILVA, H.A.; LEITE, M.A.; PAULA, A.R.V. de. Cerveja e sociedade. **Contextos da Alimentação – Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**. São Paulo: Centro Universitário Senac, vol.4, n.2, 2016.

SOUSA, F.T.; SILVA, M.A.P. da; OLIVEIRA, D.E.C.; PLÁCIDO, G.R.; CAGNIN, C.; MOURA, L.C.; et al. Modelagem matemática da secagem e propriedades físicas e funcionais do bagaço de malte. **Gl. Sci Technol**, Rio Verde, v.09, n.03, p.51-61, 2016.

STALIKAS, C.D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. v.30, p.3268-3295, 2007.

TSCHOPE, E.C. **Micro cervejarias e cervejarias: a história, a arte e a tecnologia**. 1.ed. São Paulo: Aden, 2001, 224p.

VARGAS, P.N.; HOELZEL, S.C.; ROSA, S.C. da. Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.1, p.11-15, 2008.

VENTURINI FILHO, W.G. (Coord.). **Bebidas Alcoólicas: ciência e tecnologia**. São Paulo: Blucher, v.1, 461p., 2010.

VENTURINI FILHO, W.G.; CEREDA, M.P. Cerveja. In: Almeida Lima, U., Aquarone, E., Borzani, W., Schmidell, W. **Biotechnologia Industrial (Biotechnologia na produção de alimentos)**. v.4, p.91-144, Edgar Blücher, Brasil, 2001.

WANG, Z.; et al. Antagonistic controls of autophagy and glycogen accumulation by Snf1p, the yeast homolog of AMP-activated protein kinase, and the cyclin-dependent kinase Pho, 85p. *Mol Cell Biol* 21(17):5742-52, 2001.

ALMEIDA, A. R., Compostos Bioativos do Bagaço de Malte: Capacidade Antioxidante in Vitro e Atividade Antibacteriana. Curitiba , p. 55-59, 2014.

SIQUEIRA, Priscila Becker; BOLINI, Helena Maria André; MACEDO, Gabriela Alves. O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis. *Alimentos e Nutrição*. v.19, p.491-498, 2008.