UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Bruna Medeiros
Mariane de Paula
Matheus Cardoso Vieira

VALORAÇÃO DO RESÍDUO CERVEJEIRO DA CERVEJA TIPO PILSEN PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Rio Grande
2018

Bruna Medeiros
Mariane de Paula
Matheus Cardoso Vieira

VALORAÇÃO DO RESÍDUO CERVEJEIRO PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Trabalho de Conclusão do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Profª. Drª. Jaqueline Garda Buffon

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Prentice Hernandez

Rio Grande
2018

RESUMO

A cerveja é uma das bebidas mais consumidas no mundo e o Brasil ocupa a terceira posição entre os maiores produtores mundiais, atrás apenas da China e dos Estados Unidos. O resíduo cervejeiro (RC) é resultante da fase inicial do processo e se apresenta como uma fração sólida de malte de cevada remanescente após a produção do mosto na etapa de malteação. É considerado um subproduto industrial de baixo valor agregado e de pouca aplicabilidade na indústria de alimentícia. Porém, esse resíduo apresenta uma composição onde se destacam os altos teores de fibra dietética, proteína e aminoácidos essenciais, o que acaba motivando estudos que visam o seu reaproveitamento e valoração para fins mais nobres. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo obter um extrato proteico a partir do RC, avaliando características funcionais e tecnológicas das proteínas, visando a aplicação na indústria de alimentos. O RC utilizado nesse estudo foi cedido por uma micro cervejaria, localizada em Rio Grande - RS. A composição proximal do RC foi avaliada determinando os teores de umidade, lipídios, proteínas, minerais, fibras e carboidratos totais. Após, foi feita a avaliação dos pré-tratamentos térmico e extração com solvente (hexano) do RC visando a maior recuperação proteica. A definição da melhor solução extratora baseou-se na solubilidade das proteínas em solução salina, alcalina, ácida e etanólica, sendo atingida a maior eficiência de extração com o emprego de solução alcalina seguida da solução salina. O teor de proteínas no produto obtido foi de 51,7%. sendo categorizado como extrato proteico. O extrato proteico foi obtido pelo método de variação de pH, solubilizando as proteínas em pH alcalino, seguido da precipitação utilizando o ponto isoelétrico determinado em 3,5. As fibras remanescentes da extração protéica foram avaliadas como adsorvente de AFB1 pelo método de extração líquido-líquido e MSPD (dispersão da matriz em fase sólida). As propriedades funcionais e tecnológicas avaliadas indicam a aplicabilidade do extrato na indústria de alimentos, pois a elevada solubilidade e digestibilidade combinadas com a atividade emulsionante e estabilidade da emulsão que também apresentaram resultados promissores, ampliam a aplicação do extrato em produtos como sorvetes, molhos, emulsionados cárneos e embutidos. As fibras se mostraram um promissor adsorvente de micotoxinas, visto que foi adsorvido aproximadamente 98% de aflatoxina B1. Porém, faz-se necessário futuros estudos para otimização do processo de adsorção. Dessa forma, comprovou-se a possibilidade de reutilização e valoração do resíduo cervejeiro para obtenção de proteínas e compostos adsorventes que podem ser aplicados na indústria de alimentos.

Palavras-chave: bagaço de malte, extrato proteico, propriedades funcionais, reaproveitamento.

Sumário

1.Introdução **6**
2.Objetivos **7**
2.1 Objetivo geral 7
2.2 Objetivo específicos 7
3.Revisão Bibliográfica **7**
3.1 Cerveja 7
3.1.1 Cerveja tipo Pilsen 9
3.1.2 Processo de Fabricação da Cerveja 9
3.1.3 Resíduo Úmido Cervejeiro 11
3.2 Proteínas e extrato proteico 12
3.3.Propriedade das Proteínas 13
3.4 Fibras como material adsorvente 14
4.Metodologia **15**
4.1 Material 15
4.2 Métodos 15
4.2.1 Caracterização proximal 15
4.2.2 Obtenção de extrato proteico utilizando RC 15
4.2.3 Pré tratamento do RC para extração proteica 16
4.2.4 Solução extratora das proteínas do RC 17
4.2.5 Determinação do ponto isoelétrico das proteínas do extrato 17
4.2.6 Estudo das propriedades do extrato proteico 18
4.2.6.1 Solubilidade proteica 18
4.2.6.2 Atividade emulsionante e estabilidade da emulsão 18
4.2.6.3 Capacidade de formação e estabilidade da espuma 19
4.2.6.4 Digestibilidade das proteínas *in vitro* 19
4.2.7 Estudo da capacidade de adsorção de aflatoxina B1 pelo emprego de resíduo fibroso (RF) 20
4.2.7.1 Obtenção e preparo do resíduo fibroso 20
4.2.7.2 Avaliação da capacidade de adsorção de AFB1 em solução modelo 20
4.2.7.3 Extração de AFB1 pelo método de partição líquido-líquido e MSPD 21
4.2.8 Análise estatística 21
5.Resultados e Discussão **22**
5.1 Caracterização proximal do RC da cerveja tipo Pilsen 22

5.2 Obtenção do extrato proteico utilizando RC 23
5.3 Tratamento do RC para extração proteica 24
5.4 Solução extratora das proteínas do RC 25
5.5 Determinação do ponto isoelétrico 26
5.6 Estudo das propriedades do extrato proteico 27
5.7 Aplicação do extrato proteico em produtos na indústria de alimentos 30
5.8 Avaliação da capacidade de remoção de AFB1 pelo adsorvente 32
6. Conclusões **33**
Sugestões para trabalhos futuros **34**
Referências Bibliográficas **35**

1. INTRODUÇÃO

A atividade industrial contribui para o aumento da geração dos resíduos sólidos que podem apresentar características que promovem risco ao meio ambiente e à saúde humana, necessitando, portanto, de formas adequadas de disposição final (SOUZA; ALMEIDA; SANTOS, 2009). A indústria de alimentos produz uma série de resíduos, porém esses resíduos podem apresentar alto potencial de reutilização, o que minimiza o impacto ambiental e agrega valor aos produtos do mercado (ALEXANDRE et al., 2013).

A cerveja é uma das bebidas mais consumidas no mundo e o seu processo de fabricação compreende fases distintas. Na primeira etapa do processo de fabricação, denominada brassagem, obtêm-se duas frações: uma líquida (mosto) e uma sólida (bagaço de malte de cevada) a qual se caracteriza como resíduo. A cada cem litros de cerveja produzida gera-se 20 kg do resíduo úmido representando 85% do total de resíduo sólidos do processo de produção (REINOLD, 1997). De acordo com Mussatto (2006), estima-se que a produção mundial anual de resíduo cervejeiro (RC) é de aproximadamente 30 milhões de toneladas, sendo a produção brasileira em torno de 1,7 milhões de toneladas/ano. Esses números na perspectiva da sustentabilidade, responsabilidade social e ambiental impactam fortemente carecendo de uma gestão de resíduos eficiente uma vez que sua destinação é de responsabilidade do gerador incorrendo em desrespeito legal caso sua remoção for inadequada.

O resíduo de cervejaria é um subproduto com alto teor proteico, rico em fibras em detergente neutro, carboidratos totais e extrato etéreo (GERON et al., 2008). As proteínas são indispensáveis à saúde por serem fontes de aminoácidos essenciais ao organismo humano, além de possuírem uma extensa variedade de propriedades estruturais e funcionais, onde desempenham um papel de grande importância sobre o aspecto sensorial de produtos alimentícios (YADA, 2004). Devido à relevância das propriedades funcionais e nutricionais das proteínas nos alimentos, elas vêm sendo extraídas de fontes vegetais e animais a fim de obter extratos, concentrados e isolados proteicos. Novas fontes de proteínas podem ser utilizadas como ingredientes proteicos, e são aceitas pela indústria alimentícia se possuírem propriedades tecnológicas e funcionais adequadas, como solubilidade, digestibilidade, entre outros (SCHWENZFEIER et al., 2013).

Os cereais estão entre as matérias-primas mais utilizadas em produtos alimentícios, devido a sua composição química e propriedades tecnológicas. A composição química rica em nutrientes os torna susceptíveis ao ataque de fungos durante as etapas de cultivo, armazenamento e beneficiamento, ocasionando perdas econômicas e nutricionais (ATHIÉ et al., 1998).

Nesse contexto, a cevada que está frequentemente contaminada com fungos e/ou micotoxinas durante alguma etapa do seu cultivo, transporte e/ou armazenamento

(PEREIRA; FERNANDES; CUNHA., 2014; BERTUZZI, et al., 2011; BAUER, et al., 2016). Além das micotoxinas presentes na cevada, a etapa de malteação também é considerada um ponto crítico de controle relacionado ao desenvolvimento de fungos devido ao aumento do teor de umidade do cereal, que se torna mais suscetível ao desenvolvimento de fungos e consequente produção de suas toxinas (RIBEIRO, 2016).

As micotoxinas possuem principalmente efeito carcinogênico, teratogênico e imunossupressor quando há ingestão de alimento contaminado (ARMANDO et al., 2013). Com isso, as buscas por alternativas para inibir ou controlar essa contaminação são importantes para a garantia de um alimento de qualidade, sem oferecer riscos à saúde (PAGNUSSATT et al., 2012). De forma a reduzir a contaminação por micotoxinas, estudos vêm sendo realizados com relação ao poder adsorvente das fibras vegetais sobre contaminantes orgânicos e inorgânicos. Assim, os contaminantes são transferidos para o interior do material sólido, eliminando ou diminuindo a contaminação do ambiente (PÉREZ-MARÍN et al., 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi obter um extrato proteico e material adsorvente de micotoxinas a partir do resíduo cervejeiro da etapa de mosturação para aplicação na indústria de alimentos.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a extração das proteínas com base na solubilidade delas em diferentes soluções;
- Padronizar o procedimento para obtenção de extrato proteico a partir do resíduo cervejeiro;
- Avaliar as propriedades funcionais do extrato proteico quanto a sua solubilidade, digestibilidade, poder emulsionante e capacidade de formação de espuma;
- Avaliar a capacidade de remoção de micotoxinas pelo resíduo fibroso obtido após extração proteica;
- Conscientizar as empresas do setor alimentício e disseminar a destinação do RC para fins mais nobres e com potencial aplicação na indústria de alimentos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cerveja

Segundo o Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009, que regulamenta a lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, cerveja é definida como a bebida obtida por meio da fermentação

alcóolica do mosto cervejeiro, proveniente do malte da cevada e água, por ação da levedura e com adição de lúpulo. O malte de cevada pode ser parcialmente substituído por outros cereais maltados ou não, e por carboidratos de origem vegetal, transformados ou não.

A Legislação Brasileira (BRASIL, 2009) classifica a cerveja em função das características de fermentação e do produto acabado:

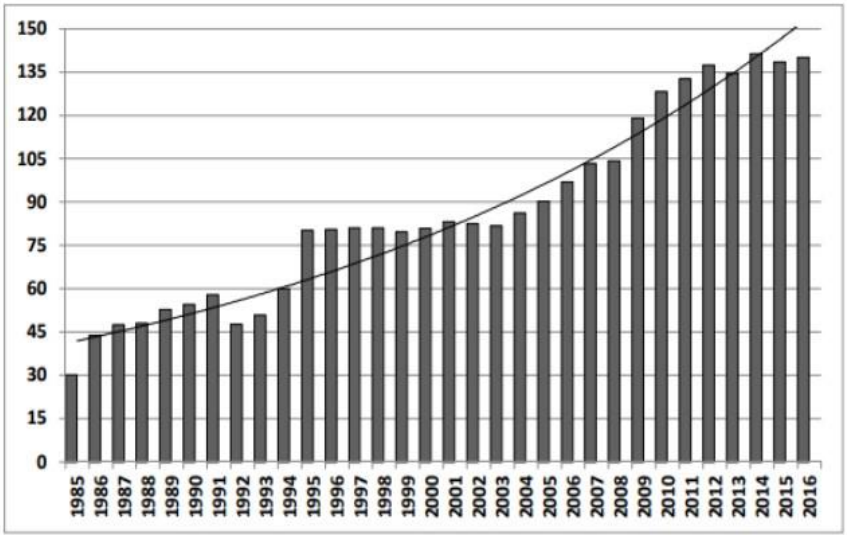
- Classificação com relação ao extrato primitivo (quantidade de sólidos solúveis em 100 g mL^{-1}): cerveja leve apresenta extrato primitivo igual ou superior a 5% e inferior a 10,5% em peso; na cerveja comum o extrato primitivo é igual ou superior a 10,5% e menor que 12%; já na cerveja extra o teor de extrato primitivo é superior a 12% e inferior a 14% e por fim, a cerveja forte, apresenta extrato primitivo superior a 14% em peso;
- Classificação com relação à cor: cerveja clara com cor inferior a 20 EBC – European Brewing Convention (Convenção Europeia de Fabricação de Cerveja); cerveja escura com 20 ou mais EBC e cerveja colorida (pela ação de corantes naturais) apresenta coloração diferente dos padrões definidos pela EBC;
- Classificação com relação ao teor alcóolico: cerveja sem álcool apresenta conteúdo em álcool menor ou igual a 0,5% em volume; cerveja com álcool com conteúdo em álcool maior que 0,5% em volume devendo constar no rótulo o percentual alcóolico;
- Classificação com relação à proporção de malte de cevada: cerveja puro malte contém 100% de malte de cevada em peso como fonte de açúcares; cerveja contém 55% ou mais de malte de cevada e cerveja com o nome do vegetal predominante contém mais de 25% e menos de 55% de malte de cevada;
- Classificação com relação à fermentação: de baixa fermentação (Lager) e de alta fermentação (Ale).

A produção mundial de cerveja apresentou um avanço desde o ano de 1986 até 2012, quando houve uma retração no consumo, ocasionada, em sua maioria pela desaceleração da economia mundial e a diminuição do consumo e produção por parte dos países desenvolvidos. No Brasil, a tendência tem se mostrado crescente nos últimos 30 anos como mostra a Figura 1. Recentemente, o Brasil atingiu a posição de terceiro lugar no ranking mundial de maiores produtores com 140 milhões de hectolitros, atrás apenas da China e Estados Unidos com 460 milhões de hectolitros e 221 milhões de hectolitros, respectivamente.

As etapas do processo de fabricação da cerveja podem diferir em diferentes parâmetros, tais como: alterações de diferentes tempos e temperaturas utilizadas na brassagem, na fermentação, na maturação ou o uso de ingredientes como milho, arroz, mel, frutas, mandioca, trigo, abóbora, entre outros (SOARES, 2011). A popularidade da indústria de cerveja artesanal influencia as preferências comerciais da cerveja por indivíduos e as

tendências de consumo mundiais, sendo um dos segmentos crescentes na indústria de bebidas (AQUILANI et al., 2015).

Figura 1. Produção nacional de cerveja em milhões de hectolitros por ano



Fonte:CERVBRASIL 2016

3.1.1 Cerveja tipo Pilsen

A cerveja tipo Pilsen assim como cervejas tipo Dortmunder, Munique, Viena, Bock, Weizenbier, são cervejas do tipo Lager. Nas cervejas Lager, o processo de fermentação ocorre em temperaturas inferiores a 12 ºC e geralmente é mais demorado quando comparado a cervejas Ale (OETTERER; REGITANO D'ARCE; SPOTO, 2006). A duração de fermentação e maturação pode ser de 4 a 12 semanas (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003).

O malte Pilsen apresenta coloração mais clara, sendo um dos mais utilizados mundialmente devido ao máximo rendimento de extrato. Os maltes mais escuros apresentam menores rendimentos e baixo ou nenhum poder enzimático. A temperatura de secagem para malte Pilsen é de no máximo 85 ºC enquanto malte Viena e Munique apresentam temperatura máxima de 90 ºC e 100-105 ºC, respectivamente (OETTERER; REGITANO D'ARCE; SPOTO, 2006).

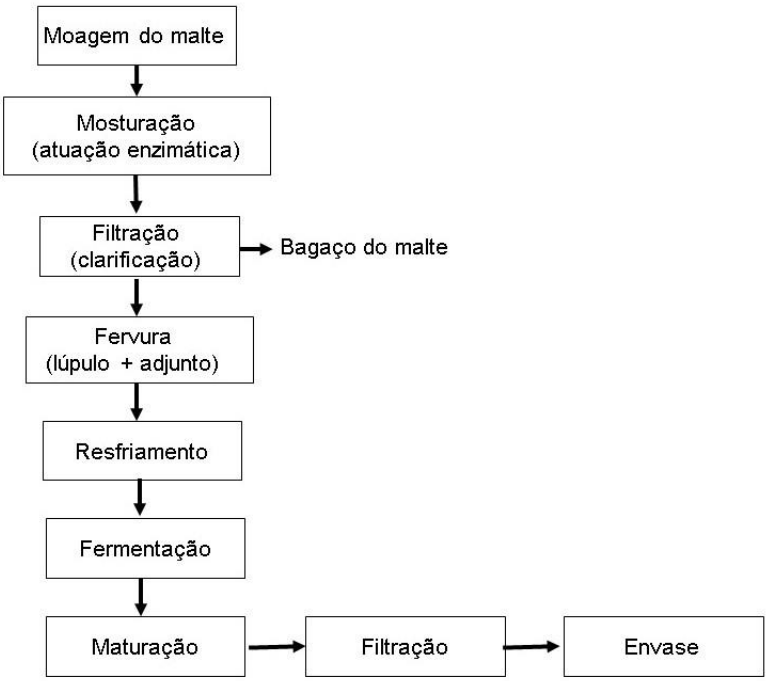
3.1.2 Processo de Fabricação de Cerveja

A Figura 2 descreve o fluxograma do processo de fabricação da cerveja. Deve-se levar em consideração que podem ser acrescentadas outras etapas dependendo da cervejaria e do tipo de cerveja a ser produzida (RUSSEL, 1994)

A etapa de moagem tem relação direta com a velocidade das transformações físico-químicas, rendimento, clarificação e qualidade final da cerveja. Esta etapa tem como

objetivo quebrar o grão do cereal e expor o amido interno que resulta em um aumento da superfície de contato com as enzimas do malte facilitando assim a hidrólise (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2010). Os equipamentos podem ser do tipo moinho de rolos, discos ou martelos. (VENTURINI FILHO, 2010).

Figura 2. Fluxograma do processo de produção de cerveja e etapa de obtenção do bagaço do malte (RC)



Fonte: Adaptado de Russel, 1994

A mistura do malte moído juntamente com água em temperatura controlada, de acordo com um programa previamente estabelecido, tem como objetivo solubilizar as substâncias do malte diretamente solúveis em água e, com auxílio das enzimas, solubilizar as substâncias insolúveis, promovendo a gomificação e posterior hidrólise do amido a açúcares (VENTURINI FILHO, 2010).

A filtração do mosto tem como finalidade a separação do bagaço de malte ou resíduo úmido cervejeiro (parte sólida) da parte líquida – o mosto cervejeiro – de real interesse para o processo (BLEIER et al., 2013).

A fervura do mosto resulta em desnaturação proteica, concentração do mosto, eliminação de compostos sulfurosos, esterilização e escurecimento do mosto – reação de Maillard. Nessa etapa também é adicionado lúpulo, geralmente em duas etapas: a primeira no início da fervura conferindo amargor e a segunda adição no final da fervura para conferir o aroma característico da cerveja. O processo tem duração média de 80 minutos de fervura

e 30 minutos de aquecimento do líquido podendo variar conforme densidade do mosto (PAPAZIAN, 2014).

Após filtração e inoculação da levedura no filtrado, inicia-se a etapa de fermentação com o mosto já resfriado e aerado. Ocorre então liberação de CO_2 e calor (SANTOS, 2008). Em seguida, com a retirada do fermento, há a diminuição da temperatura no tanque iniciando o processo de maturação com duração mínima de 72 horas. É a etapa em que ocorre importantes reações físico-químicas de transformação do aspecto visual da bebida além da incorporação de aromas e sabores característicos (MORADO, 2009). A escolha do tipo de maturação ou programa de tempo/temperatura a ser aplicado durante a atuação enzimática vai depender da composição e do tipo de cerveja desejado, agregando, por exemplo, do quanto de açúcares fermentescíveis deseja-se ou do quanto de substâncias proteicas de alta massa molecular almeja-se para o corpo da cerveja e consistência da espuma (VENTURINI FILHO, 2010). Então, o líquido é novamente filtrado e envasado.

3.1.3 Resíduo Úmido Cervejeiro

O resíduo úmido de cervejaria (RC) também chamado de polpa de cervejaria, bagaço de malte ou cevada é definido como um resíduo extraído do grão da cevada, que sozinho ou misturado com outros cereais, formam a cerveja tradicionalmente comercializada (CLARK; MURPHY; CROOKER.; 1987)

O resíduo úmido de cervejaria é um subproduto obtido pelo processamento de cerveja. No processo de obtenção do malte, os grãos de cevada são imersos em água morna que, em seguida é retirada para promover a germinação dos grãos e a hidrólise do amido em dextrina e maltose, que são posteriormente extraídos. A atividade enzimática é interrompida, em sequência, por aquecimento (50-80 ºC) no qual, parte da água é evaporada. O grão maltado é prensado e embebido em água para formar o mosto cervejeiro – a parte sólida é separada e constitui o RC (GERON et al., 2007).

Os critérios para caracterização de resíduos são definidos em função de sua origem e degradabilidade e, são úteis para obtenção de uma classificação operacional. A partir do conjunto de regras e definições da NBR-10.004 (2004), o RC pode ser classificado e enquadrado no grupo de Resíduos de Classe IIA (não inertes): resíduos que não se enquadram em nenhuma das demais classes (I e IIB), mas são reativos, e podem apresentar combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água, estando incluídos a matéria orgânica, papéis, papelão, matéria vegetal e outros (NAIME; GARCIA, 2004). Ainda, os resíduos de atividades agroindustriais apresentam, em geral, grande concentração de material orgânico e o seu lançamento em corpos hídricos pode proporcionar grande decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido nesse meio, cuja intensidade depende

da concentração de carga orgânica e da quantidade lançada, além da vazão de água do curso receptor (BROCHIER; CARVALHO, 2009).

O RC é um resíduo rico de proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) que vem sendo estudado como uma alternativa na alimentação animal devido a seu valor nutricional. A quantidade de PB e outros nutrientes, com exceção do amido, no RC é maior que nos cereais que são usados para fabricação da cerveja (CLARK; MURPHY; CROOKER.; 1987). O percentual de PB do resíduo varia de 17 a 32% e de FDN de 55 a 65% (WEST; MARTINI., 1994; COSTA et al., 1995; CARVALHO et al., 2004 e GERON et al., 2007).

Segundo Cabral Filho (1999), por se tratar de um resíduo da agroindústria, a composição química do RC pode sofrer variações na concentração dos nutrientes que depende da qualidade da matéria prima, da proporção de cada ingrediente utilizado pela indústria durante o processamento além de variações do processo para obtenção de cervejas com sabores diferenciados.

3.2 Proteínas e extrato proteicos

As proteínas são macromoléculas complexas, compostas por carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, formadas por aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas. Elas desempenham um papel fundamental para o organismo humano, participando praticamente de quase todos os processos biológicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 2006).

Do ponto de vista químico, dividem-se em dois grupos, as proteínas simples, constituídas somente por polipeptídios, e proteínas complexas ou conjugadas, que possuem grupamentos adicionais, como carboidratos, ácidos nucléicos ou lipídeos. As suas propriedades e funcionalidades dependem da composição aminoacídica e da disposição destes aminoácidos (MARZZOCO; TORRES, 2007).

As proteínas alimentares podem ser definidas como aquelas que apresentam elevada digestibilidade, presença de aminoácidos essenciais, ausência de toxicidade, que atribua propriedades funcionais em alimentos e que estejam disponíveis em abundância (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Com isso, devido à crescente demanda da população por produtos nutritivos, fontes alternativas de proteínas para produtos alimentícios necessitam ser desenvolvidas.

Os extratos proteicos, assim como os concentrados, são produtos obtidos a partir da retirada parcial de substâncias não proteicas de uma matéria prima, como carboidratos, sais minerais, entre outros (FONTANA et al, 2009). A obtenção deste pode se dar por via enzimática ou química. Na enzimática, são utilizadas enzimas, para facilitar o processo de extração proteica (TANG et al., 2003). Por via química, o processo consiste na solubilização

das proteínas em pH alcalino ou ácido, com posterior precipitação no ponto isoelétrico da proteína (NOLSØE; UNDELAND, 2009).

O processo de solubilização ácida ou alcalina foi desenvolvido na Universidade de Massachusetts (Massachusetts Marine Station, Gloucester, MA, USA). Seu princípio consiste em que condições extremas no pH do material homogeneizado em água, ocasionam sua solubilização devido a mudanças que ocorrem nas cargas das proteínas, que promovem a repulsão entre elas e consequentemente a interação com a água (NOLSØE; UNDELAND, 2009).

De acordo com Glória e Regitano-d'Arce (2000), a quantidade mínima de proteína nos concentrados e isolados proteicos são 68% e 88% em base seca, respectivamente, sendo os de soja os únicos classificados na Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978. A RDC número 268 de 22 de setembro de 2005 aprova o regulamento técnico para produtos proteicos de origem vegetal, classifica os teores de proteínas para soja e define a concentração de proteínas em extrato proteico em pó de no mínimo 40% de proteínas em base seca.

Esses produtos proteicos têm sido produzidos para utilização como ingredientes funcionais em produtos alimentícios. Quando utilizados para substituírem as proteínas convencionais em alimentos, os concentrados devem manter ou melhorar a sua qualidade nutricional e aceitabilidade (HUA et al., 2005). A obtenção de extratos proteicos a partir de resíduos da indústria alimentícia é uma alternativa sustentável para reutilização destes já que acarreta na redução deles e consequentemente minimiza problemas de descartes no meio ambiente, além de agregar valor pela extração das proteínas presentes nele (MORAES, 2009).

3.3 Propriedades das proteínas

As proteínas possuem propriedades físico-químicas que contribuem com as características desejadas de um alimento, interferindo na sua qualidade e aspectos sensoriais do mesmo (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007). Elas podem ser classificadas de acordo com suas propriedades funcionais, como hidrofílicas, interfásicas, intermoleculares, reológicas e organolépticas (SGARBIERI, 1996). O conhecimento das características funcionais do concentrado proteico facilita o emprego adequado nos produtos alimentícios.

A solubilidade é uma propriedade funcional fundamental, pela importância que exerce sobre o papel tecnológico e nutricional das proteínas nos alimentos. Ela é relativamente elevada em água e reduzida em solventes orgânicos (SGARBIERI, 1996). Uma boa solubilidade é necessária para várias aplicações, especialmente para emulsões, géis e espumas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A digestibilidade de proteínas pode ser entendida como uma parte da proteína que pode ser hidrolisada por enzimas digestivas até aminoácidos, logo estaria disponível biologicamente para absorção. É determinada *in vitro* utilizando enzimas proteolíticas, onde é simulado as condições de acidez do ambiente estomacal e também intestinal (SGARBIERI, 1996). É um fator importante na determinação do valor nutritivo de uma proteína, onde uma proteína de alta qualidade apresenta uma quantidade adequada de aminoácidos essenciais e uma boa digestibilidade (REED, 1984).

As propriedades de uma proteína de formar espuma refere-se a sua capacidade da formação de uma fina e resistente película na interface gás-líquido, onde bolhas de gás podem ser incorporadas e estabilizadas. Geralmente, a formação de bolhas ou o ato de agitar uma solução proteica criam espumas estabilizadas por proteínas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

3.4 Fibras como material adsorvente

Fibras podem ser definidas como o conjunto de polissacarídeos não-amiláceos, amido resistente e lignina (LEE; PROSKY, 1995). Para a determinação da fibra alimentar pode ser usado os seguintes métodos “fibra bruta (FB)”, “fibra em detergente neutro (FDN)” e “fibra em detergente ácido (FDA)” (LIMA, 2003). De acordo com Neumann (2002), a FB vem sendo substituída pela FDN e FDA há cerca de 40 anos pelos pesquisadores. O detergente neutro possibilita a separação do conteúdo celular (fração solúvel), formada por proteínas, carboidratos solúveis e gorduras da parede celular, da fração insolúvel no detergente neutro, a qual é chamada de fibra em detergente neutro (FDN), constituída de celulose, hemicelulose e lignina (GERON et al., 2007).

O uso de fibras de origem vegetal como material adsorvente é ainda novo, mas estudos já obtiveram sucesso aplicando esse tipo de material na adsorção de diferentes substâncias. Nos últimos anos, alguns estudos de adsorção utilizando resíduos agrícolas, como casca de arroz, casca da mandioca, caroço de azeitona, bagaço da cana de açúcar, entre outros, para remoção de diversos contaminantes presentes em solução aquosa, vêm sendo realizados (CARDOSO, 2017). Segundo Figueiredo, Boaventura e Loureiro (2000), para um processo de adsorção ser eficiente deve-se levar em conta a escolha do adsorvente, que deverá apresentar alta seletividade, alta capacidade, longa vida e estar disponível em grandes quantidades e a um baixo custo.

O estudo do material fibroso obtido do resíduo cervejeiro para utilização como adsorvente é promissor, uma vez que o seu aproveitamento minimiza o acúmulo no ambiente e torna o processo de adsorção economicamente viável devido à disponibilidade em grandes quantidades desse material. Carvalho et al (2012) empregou casca de arroz, produto altamente fibroso, como adsorvente de aflatoxinas e ocratoxinas presentes em

cebola, utilizando a técnica de MSPD (dispersão da matriz em fase sólida) onde a remoção de todas as micotoxinas estudadas foram obtidas. Scaglioni e Badiale-Furlong (2016) também avaliaram a utilização de casca de arroz como adsorvente de aflatoxinas no leite, onde sua capacidade adsortiva foi comprovada.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

O resíduo cervejeiro (RC) da cerveja tipo Pilsen utilizado neste estudo foi fornecido por uma empresa local, a micro cervejaria Garden Grill Cervejaria Artesanal, localizada em Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. A matéria-prima foi mantida sob congelamento em recipiente devidamente vedado.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização proximal do RC

O RC foi caracterizado quimicamente conforme os métodos da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000), determinando os teores de umidade (AOAC 925.45b), lipídios (AOAC 920.39), proteínas (AOAC 960.52), cinzas (AOAC 923.03) e fibras (AOAC 985.29), sendo o conteúdo de carboidratos totais estimado por diferença.

4.2.2 Obtenção do extrato proteico utilizando o RC

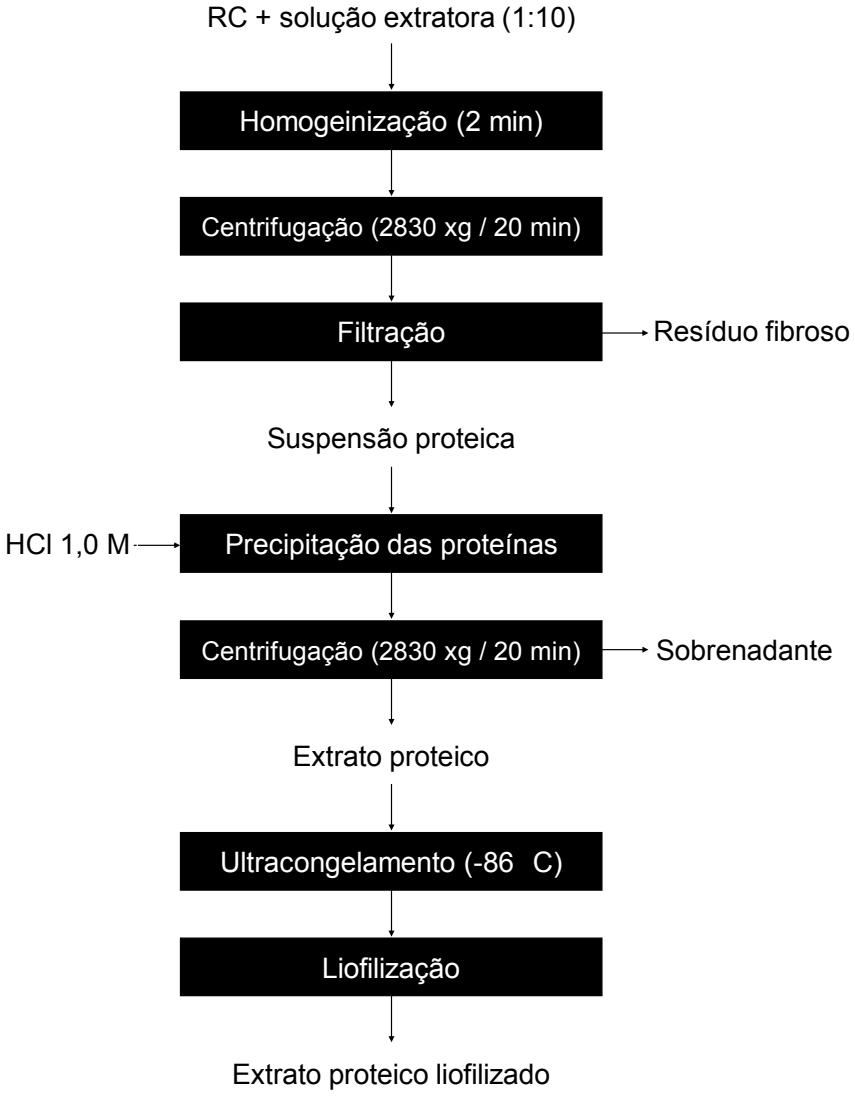
A partir de uma massa de 50 g do RC, foram extraídas as proteínas para a obtenção do extrato proteico de acordo com o procedimento descrito por Modesti (2006) com modificações. Para isso, inicialmente foi homogeneizado em *blender* o RC com a solução extratora, na proporção 1:10 (RC:solução (p/v)), seguido da centrifugação a 2830 *x* g por 20 minutos, filtração em papel filtro quantitativo e precipitação das proteínas de acordo com o ponto isoelétrico pré-estabelecido, conforme descrito por Nolsøe e Undeland (2009). Durante a precipitação, a mistura foi mantida sob agitação em temperatura ambiente. Para atingir o pH desejado foi realizada a adição de HCl 1,0 M e NaOH 1,0 M quando necessário. O meio foi mantido nessa condição por 60 minutos, e após centrifugado a 2830 *x* g por 20 minutos.

O precipitado foi separado do sobrenadante, neutralizado com água e NaOH 1,0 M, ultracongelado a -86 °C e liofilizado, resultando no extrato proteico seco. A Figura 3 demonstra o processo para obtenção do extrato proteico a partir do RC.

O produto final foi macerado com auxílio de *graal* e pistilo, acondicionado em recipiente vedado, armazenado em temperatura de congelamento e o conteúdo de proteína determinado por Kjeldahl, utilizando um fator de conversão de 6,25 (%N x 6,25). Para este

estudo foram avaliados alguns parâmetros visando a obtenção de maior concentração proteica, como tratamento do RC e solução extratora utilizada.

Figura 3. Processo de obtenção do extrato proteico seco



4.2.3 Pré-tratamento do RC para extração proteica

Para obtenção do extrato proteico foram avaliados quatro pré-tratamentos:

1) Resíduo cervejeiro úmido (RCU);
2) Resíduo cervejeiro úmido desengordurado (RCUD);
3) Resíduo cervejeiro seco (RCS);
4) Resíduo cervejeiro seco desengordurado (RCSD);

Para obter o RCS e RCSD, foi empregada a temperatura de 50 °C em estufa por 24 horas. O RC desengordurado foi submetido ao tratamento com solvente conforme Wang et al. (1999), empregando hexano na proporção 1:3 (RC:hexano), mantendo sob agitação em

agitador orbital, à uma temperatura de 50 °C por 30 minutos. A fase orgânica foi removida e o RC desengordurado úmido foi acondicionado em um recipiente aberto para evaporação do resíduo de solvente à temperatura ambiente por 8 horas.

Para a extração proteica foi empregado NaOH 0,05 M e 50 g RC, mantidos sob agitação em *blender* por dois minutos (Modesti, 2006). A quantidade de proteínas extraídas das amostras sem e com tratamento foi quantificada empregando o método do Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949), utilizando a curva padrão de albumina (y= 0,2373x, r= 0,998), sendo essa utilizada para todas as aplicações do método do Biureto nesse estudo.

4.2.4 Solução extratora das proteínas do RC

Para a obtenção do extrato proteico, foram avaliadas quatro soluções extratoras, separadamente, conforme Modesti (2006):

1) Solução alcalina (NaOH 0,05 M) na proporção 1:10 (p/v);
2) Solução etanólica 70% na proporção 1:10 (p/v);
3) Solução salina de (NaCl 0,15 M) na proporção 1:10 (p/v);
4) Água destilada na proporção 1:10 (p/v).

A homogeneização do RC (50 g) com a solução extratora foi realizada em *blender* por dois minutos e após a mistura obtida foi centrifugada a 2830 *x* g por 20 minutos e filtrada através de papel filtro quantitativo. A concentração proteica foi determinada no filtrado, empregando o método do Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID,1949) e a solução que possibilitou maior recuperação proteica foi utilizada na sequência do estudo.

4.2.5 Determinação do ponto isoelétrico das proteínas do extrato

Para a determinação do ponto isoelétrico foi observado o pH em que ocorreu a maior precipitação proteica conforme proposto por Mastreoni e Gern (2008). Para isso, com o auxílio de um pHmetro, foi realizado o ajuste do pH do meio para 7 e foi realizada a adição de HCl 1,0 M até pH 6,0; 5,0; 4,5; 4,0; 3,5; 3,0; 2,5 e 2,0. Em cada valo de pH, uma alíquota da amostra foi retirada, centrifugada (2830 *x* g por 20 minutos) e o teor de proteínas no sobrenadante e no precipitado – ressuspendido em solução de NaOH 0,5 M – foram determinados pelo método do Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID,1949). O ponto isoelétrico foi considerado aquele em que ocorreu a maior concentração de proteínas no precipitado e menor concentração no sobrenadante.

4.2.6 Estudo das propriedades do extrato proteico

4.2.6.1 Solubilidade proteica

Para a determinação da solubilidade das proteínas foi utilizado o procedimento proposto por Morr et al. (1985). Para tanto, 0,5 g de amostra foram adicionados em béquer de 100 mL juntamente com NaCl 0,1 M em quantidade suficiente para formar uma pasta homogênea, após o volume foi completado até 40 mL com a mesma solução salina. Durante 30 minutos, a mistura foi mantida sob agitação com o auxílio de um agitador magnético em um sistema de aquecimento encamisado com temperatura variando entre 40 e 60 °C. O pH foi ajustado para 3, 5, 7, 9 e 11, sendo retirada uma alíquota de 5 mL em cada valor de pH. Essa alíquota foi centrifugada a 2830 *x* g por 20 minutos e o sobrenadante filtrado O conteúdo de proteína foi determinado pelo método do Biureto (GORNALL; BARDAWILL; DAVID,1949) e a solubilidade das proteínas calculada conforme a Equação 1.

$$\text{Solubilidade Proteica } (\%) = \frac{\text{PSS x 50}}{m_{amostra} \text{ x } (P_{amostra}/100)} \text{ x 100} \qquad (1)$$

Onde:

PSS = concentração de proteínas solúveis no sobrenadante (mg mL^{-1});

$m_{amostra}$ = massa da amostra (mg);

$P_{amostra}$ = concentração de proteína na amostra (mg mL^{-1}).

4.2.6.2 Atividade emulsionante e estabilidade da emulsão

A atividade emulsionante e a estabilidade da emulsão foram determinadas conforme método de Murate e Ferreira (1999). Para medida da atividade emulsionante, foram adicionados em 0,7 g da amostra, 10 mL de água destilada e 10 mL de óleo de soja. A suspensão foi emulsificada com auxílio de um *ultra turrax* por um minuto e após, centrifugada a 2830 *x* g por cinco minutos. A estabilidade da emulsão foi testada mediante aquecimento da mesma a 80 °C por 30 minutos seguida de resfriamento e centrifugação a 2830 *x* g por cinco minutos. Para o cálculo da atividade emulsionante e estabilidade da emulsão foram utilizadas as Equações 2 e 3, respectivamente.

$$\text{Atividade emulsionante } (\%) = \frac{V_{emulsão}}{V_{tubo}} \text{ x 100} \qquad (2)$$

$$\text{Estabilidade da emulsão } (\%) = \frac{V_{remanescente}}{V_{emulsão}} \text{ x 100} \qquad (3)$$

Onde:

$V_{emulsão}$ = volume total da camada emulsionada (mL);

$V_{remanescente}$ = volume da camada emulsionada remanescente (mL);

V_{tubo} = volume total do tubo (mL).

4.2.6.3 Capacidade de formação e estabilidade da espuma

A capacidade de formação de espuma (CFE) e estabilidade da espuma (EE) foram avaliadas seguindo o método de Miller e Groninger (1976), onde soluções preparadas com 2% (p/v) de amostra em água destilada em proveta graduada foram agitadas com *ultra turrax* por um minuto a 2830 *x* g. A estabilidade da espuma foi avaliada à temperatura ambiente através do acompanhamento do volume total após intervalos de 5, 10, 15, 30 e 60 minutos de repouso das amostras. Para o cálculo da capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma foram utilizadas as Equações 4 e 5, respectivamente.

$$CFE\ (\%) = \frac{V_{espuma}}{V_{inicial}} \times 100 \qquad (4)$$

$$EE\ (\%) = \frac{V_{espuma\ tempo\ x}}{V_{espuma}} \times 100 \qquad (5)$$

Onde:

V_{espuma} = Volume de espuma (mL);

$V_{inicial}$ = Volume inicial (mL);

$V_{espuma\ tempo\ x}$ = Volume de espuma em cada um dos intervalos de repouso (mL).

4.2.6.4 Digestibilidade das proteínas *in vitro*

A digestibilidade do concentrado proteico obtido foi avaliada a partir do procedimento descrito por Silveira e Furlong (2007). Para isso, 0,2 g de amostra foi submetida a hidrólise com 10 mL de solução de pepsina diluída em HCl 0,1 M, na concentração de 3 mg mL^{-1}, por 3 horas em banho a 37 °C. Em seguida o pH foi elevado a 7,0 e a amostra centrifugada 2830 *x* g por 10 minutos. Após a separação do sobrenadante, foram adicionados ao precipitado 10 mL de uma suspensão de pancreatina diluída em tampão fosfato pH 8,0, na concentração de 4 mg mL^{-1}, para continuidade da hidrólise por 24 horas em banho a 37 °C com agitação. A hidrólise foi finalizada pela adição de 10 mL de TCA 30%, e o volume da amostra completado para 50 mL com TCA 5%. As amostras foram centrifugadas a 2830 *x* g por 10 minutos e o sobrenadante submetido a análise de proteína total, por Kjeldahl. Para determinação da digestibilidade (%D), foram relacionadas a quantidade de proteína digerida ao final do processo ($P_{digerida}$), pela quantidade de proteína inicial ($P_{inicial}$), submetida a

digestão, conforme a Equação 6. Também foi preparada uma amostra em branco, para avaliação do conteúdo de proteína referente às enzimas (P_{enzima}).

$$D\ (\%) = \frac{P_{digerida} - P_{enzima}}{P_{inicial}} \times 100 \qquad (6)$$

4.2.7 Estudo da capacidade de adsorção de aflatoxina B1 pelo emprego do resíduo fibroso (RF)

4.2.7.1 Obtenção e preparo do resíduo fibroso

Após a extração proteica do RC com a solução extratora, centrifugou-se e o sobrenadante foi separado. O resíduo sólido resultante da extração foi denominado de resíduo fibroso (RF), onde passou por um pré-tratamento químico, conforme proposto por Assumpção et al (2016). Para isso, 20 g desse RF, previamente lavado três vezes com água destilada e seco em estufa a 60 °C por 3 horas, foram adicionados em balão contendo solução de H_2SO_4 1,45% (v/v), em uma proporção 1:10 (p/v) à 105 °C por 75 minutos, sob agitação constante em evaporador rotativo. Em seguida, a mistura foi transferida para outro balão com H_2O_2 7,5% (v/v) em pH 11,5 – ajustado com NaOH 4% (v/v) – em uma proporção 1:20 (p/v), em evaporador rotativo durante 3 horas a 80 °C.

Ao final desse processo, a fração sólida foi lavada com água até neutralização e seca em estufa a 105 °C. Em seguida, o RF foi moído em moinho de facas e separado de acordo com a granulometria. A porção retida em 0,5 mm foi lavada três vezes com hexano (1:4) sob agitação (160 rpm) a 25 °C por 30 minutos. Após foi filtrado e o resíduo sólido lavado mais três vezes com metanol nas mesmas condições anteriores. Depois dessa lavagem, o conteúdo foi seco em estufa a 105 °C até peso constante (CARVALHO et al., 2012).

4.2.7.2 Avaliação da capacidade de adsorção de AFB1 em solução modelo

A capacidade de remoção da micotoxina AFB1 pelo RF foi avaliada conforme as condições descritas por Marimón et al. (2018). Para isso, tubos de centrífuga foram contaminados artificialmente com solução padrão de AFB1 em duas concentrações diferentes (0,5 µg L^{-1}; 1,0 µg L^{-1}), o solvente foi evaporado sob corrente de nitrogênio e a micotoxina solubilizada em solução modelo (Tampão fosfato 100 mM, pH 7,0), utilizando vórtice por 30 segundos e seguido de banho ultrassônico durante três minutos. Os experimentos foram incubados em agitador orbital a 150 rpm durante 3 horas a 35 °C. A concentração de AFB1 remanescente após o tratamento com RF foi estimada para determinar a porcentagem de micotoxina adsorvida. Todos os experimentos foram realizados e analisados em triplicata, e a porcentagem de redução foi determinada pela

diferença entre a concentração inicial e a concentração residual da micotoxina, conforme a Equação 7:

$$\text{Redução } (\%) = (AFB1_{final}/AFB1_{inicial}) \times 100 \qquad (7)$$

Onde:

$AFB1_{inicial}$: Concentração inicial de AFB1 (µg L^{-1})

$AFB1_{final}$: Concentração final de AFB1 (µg L^{-1}).

4.2.7.3 Extração da AFB1 pelo método de partição líquido-líquido e MSPD

O método de partição líquido-líquido (LLP) foi usado para extrair a AFB1 da solução modelo (Tampão fosfato 100 mM, pH 7,0), de acordo com o método proposto por Bauer et al. (2016). A extração foi realizada em triplicata, da seguinte forma: 1 mL de clorofórmio (CH_3Cl) foi adicionado a 1 mL da solução modelo e a mistura foi agitada em vórtice por 30 segundos seguido de banho ultrassônico por três minutos. A fase orgânica foi removida e seca sob corrente de nitrogênio. O extrato seco foi diluído com água: MeCN (90:10 v/v) e analisado em HPLC-FL (Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência acoplada a detector de fluorescência).

A avaliação do adsorvente após a contaminação seguiu-se de acordo com Massarolo et al. (2018), empregando a técnica de dispersão da matriz em fase sólida (MSPD). Para tanto, o adsorvente contaminado foi transferido para *graal*, onde foi macerado com 25 mg de adsorvente C18 durante cinco minutos. Posteriormente foi feita a eluição com 10 mL de acetonitrila:metanol (50:50 (v:v)), seguida de agitação e após agitado em vórtice por três minutos. O conteúdo foi centrifugado por 10 minutos a 3220 *x* g, e 5 mL do extrato foi recolhido e evaporado sob corrente de nitrogênio. O extrato seco foi diluído com água: MeCN (90:10 v/v) e analisado por HPLC-FL.

Para a quantificação da AFB1 foi utilizado o HPLC-FL e processamento no software LC Solution. A fase móvel foi composta por acetonitrila:metanol:água, na proporção de 25:15:60 (v/v), com modo de eluição isocrática (Becker-Algeri, 2016). A análise cromatográfica foi realizada em coluna Kromasil C18 (5 µm, 15 cm x 4,6 mm), com vazão de fase móvel de 1 mL min^{-1}, temperatura de forno de 40 °C e com volume de injeção de 20 µL (GONÇALVES et al, 2018). Para detecção da AFB1 foram utilizados os comprimentos de onda de excitação e emissão de 370 e 410 nm, respectivamente. O tempo de análise cromatográfica foi de 12 minutos. A AFB1 foi identificada através do tempo de retenção e a confirmação foi realizada por co-comatografia.

4.2.8 Análise estatística

O software Statistica 5.0 foi utilizado para tratamento de dados de análises de obtenção do extrato proteico além, da avaliação da diferença entre as médias ± desvio padrão, de três

determinações, da composição química da matéria-prima e das propriedades estudadas no extrato. Foi aplicada análise de variância e Teste t-Student para duas amostras e Teste de Tuckey para três ou mais amostras, com nível de confiança de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização proximal do RC da cerveja tipo Pilsen

O resíduo cervejeiro utilizado no estudo foi coletado *in natura* com um teor de umidade de 75,6%. A composição do RC utilizado neste estudo está apresentada na Tabela 1, onde os valores são expressos como porcentagem em massa úmida e seca. É importante destacar que a composição físico-química do resíduo pode variar de acordo com o processo de fabricação, matéria prima utilizada para produção da cerveja, condições de estocagem do malte, qualidade e tipo de adjuntos adicionados, que podem ser modificados de acordo com a necessidade de fabricação ou com a época do ano (SANTOS et al., 2003).

Tabela 1- Caracterização química do RC (resíduo cervejeiro)

Componente	Teor na amostra em base úmida (% p/p)	Teor na amostra em base seca (% p/p)
Umidade	75,6 ± 0,7	-
Proteínas	6,0 ± 0,3	24,6 ± 0,3
Lipídios	2,7 ± 1,9	11,2 ± 1,9
Cinzas	0,9 ± 0,1	3,7 ± 0,1
Fibras	8,4 ± 0,3	34,4 ± 0,3
Carboidratos*	6,4	25,8

Média ± desvio padrão de três repetições. *Carboidratos calculados por diferença

Robertson et al. (2010) determinaram o teor de umidade em bagaços de malte de cevada provenientes de diferentes cervejarias, e encontraram valores entre 75 e 80%. Santos et al. (2003) avaliaram o teor de umidade e de cinzas de oito lotes de bagaço cervejeiro, constituído de 80% de malte de cevada e 20% de milho, obtendo valores entre 76,8 e 78,9%, para umidade, e entre 3,4 e 4% para cinzas, em base seca (bs). O teor de cinzas encontrado no RC em questão foi de 3,7% (bs).

Ao observar os resultados obtidos na caracterização do RC pode-se dizer que dois parâmetros se destacaram no resíduo: o teor de proteínas e fibras. Segundo Santos et al. (2003), o bagaço de malte é considerado como um material lignocelulósico (rico em

proteínas e fibras) sendo que os principais componentes destes tecidos fibrosos são arabinoxilano, lignina (uma macromolécula de polifenóis) e celulose (um homopolímero linear de unidades de glicose).O teor de proteínas do RC é maior do que as quantidades observadas em outros materiais lignocelulósicos como as palhas de cevada, aveia, arroz e trigo que contêm entre 3,0 a 5,0% de proteínas (THEANDER; AMAN, 1984). O teor de proteína do bagaço de malte foi semelhante aos relatados por outros autores, 24,2% (SANTOS et al., 2003) e 24,0% (KANAUCHI et al., 2001), confirmando a sua potencialidade.

O teor de fibras, em torno de 3,4% está consistente com outros estudos que vem sendo realizados com fibras provenientes de diferentes fontes vegetais para serem usados como adsorventes de substâncias químicas e também micotoxinas, o RC também pode apresentar potencial adsorvente (FOLETO, 2005; ROSA, 2009). Ainda não há relatos do uso do resíduo cervejeiro como adsorvente de micotoxinas. Porém, Amorim (2016) utilizou RC como adsorvente em efluente de gasolina tipo comum e obteve resultados relevantes observando a adsorção de quase 50% do contaminante no efluente.

5.2 Obtenção do extrato proteico utilizando o RC

A RDC número 268 de 22 de setembro de 2005 aprova o regulamento técnico para produtos proteicos de origem vegetal, classificando os teores de proteínas para soja e define a concentração de proteínas em extrato proteico em pó de no mínimo 40% de proteínas em base seca.

De acordo com Glória e Regitano-d'Arce (2000), a quantidade mínima de proteína nos concentrados e isolados proteicos são 68% e 88% em base seca, respectivamente, sendo os de soja os únicos classificados na Resolução CNNPA nº 14, de 28 de junho de 1978.

O produto obtido a partir do RC apresentou 51,7% de proteínas, em base seca, e pode ser categorizado como extrato proteico.

Na Tabela 2 está apresentado a composição proximal do extrato proteico em base úmida e seca.

Ao se comparar o conteúdo de proteínas no extrato com o determinado no RC, pode-se observar que o extrato apresentou um conteúdo alto de proteínas, além de ter eliminado as fibras na primeira etapa de centrifugação. O alto conteúdo de cinzas pode ser em função da presença de sal que se forma pela adição do hidróxido de sódio e ácido clorídrico durante os processos de solubilização e precipitação das proteínas (PASTRE et al., 2012).

Observou-se que o conteúdo de lipídios presentes no extrato foi maior comparado ao RC. Esse fato também foi verificado por Boonla et al. (2015) ao avaliar farelo de arroz desengordurado e, no final do processo de obtenção da proteína, obteve um concentrado com 16,3% de lipídeos. Este fato pode ser considerado devido ao uso de temperaturas mais elevadas de processo, acarretando o arraste dessa porção lipídica no momento da

precipitação da proteína. A presença dos lipídios no extrato poderia ser diminuída com o uso da centrifugação à baixas temperaturas, promovendo a separação destes na fase superior do sobrenadante.

Tabela 2. Composição proximal extrato proteico obtido a partir do RC.

Componente	Teor na amostra em base úmida (% p/p)	Teor na amostra em base seca (% p/p)
Umidade	11,4 ± 2,3	-
Proteínas	45,8 ± 1,9	51,7 ± 1,9
Lipídios	17,3 ± 2,7	19,5 ± 2,7
Cinzas	16,0 ± 0,5	18,1 ± 0,5
Carboidratos*	9,4	10,6

Média ± desvio padrão de três repetições. *Carboidratos calculados por diferença

5.3 Tratamento do RC para extração proteica

Na Tabela 3 estão expressos os resultados obtidos para os diferentes métodos de tratamento da amostra que refletem na melhor condição de extração das proteínas do RC.

Tabela 3- Concentração de proteínas extraídas em diferentes condições de preparo do RC em base seca.

Amostra	Proteína extraída (mg g^{-1})	Rendimento de extração (%)
RCS	111,13 ± 1,39[ab]	21,5
RCSD	67,98 ± 1,40[c]	13,1
RCUD	104,94 ± 0,81[b]	20,3
RCU	113,26 ± 2,21[a]	21,9

Média ± desvio padrão de três repetições. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as diferentes condições de preparo da amostra ($p<0,05$). RCS= Resíduo Cervejeiro Seco; RCSD= Resíduo Cervejeiro Seco Desengordurado; RCUD= Resíduo Cervejeiro Úmido Desengordurado; RCU= Resíduo Cervejeiro Úmido.

A maior quantidade de proteínas extraídas foi na amostra úmida (RCU) que não difere estatisticamente da amostra seca (RCS). De acordo com Lowell (1995) e Van Soest (1994), as condições de umidade elevada (acima de 50%) e temperatura acima de 55 °C são

favoráveis à ocorrência de reações não enzimáticas entre os carboidratos e grupos aminas dos aminoácidos, resultando em compostos denominados produtos da reação de Maillard. Sendo assim, escolheu-se manter o resíduo úmido (RCU) para a obtenção do extrato proteico. A escolha do RCU em comparação com o RCS elimina a etapa de secagem a qual demandaria tempo e maior custo no processo de obtenção proteica. A temperatura de 50 °C foi empregada com intuito de evitar a desnaturação proteica e a ocorrência da reação de Maillard que, ocasiona redução do valor nutricional dos alimentos (SHIBAO; BASTOS, 2011).

5.4 Solução extratora das proteínas do RC

A eficiência da extração empregando as soluções de NaOH (0,05 M), NaCl (0,15 M), etanólica 70% (v/v) e água destilada está descrita na Tabela 4. A solução alcalina possibilitou a extração de uma maior quantidade de proteínas em comparação com as outras.

A solução salina apresentou uma eficiência de extração superior à solução etanólica e à água. Porém, ao se comparar com o teor de proteínas extraídas com a solução alcalina, foi observado que a solução salina apresentou uma eficiência inferior, cerca de 55% menor.

Tabela 4- Recuperação proteica a partir do RC úmido utilizando diferentes soluções

Solução extratora	Proteínas extraídas (mg g^{-1})	Rendimento de extração (%)
NaOH (0,05 M)	26,11 ± 1,15[a]	23,5
NaCl (0,15 M)	11,84 ± 1,39[b]	10,6
Etanólica 70% (v/v)	9,78 ± 0,52[b]	8,8
Água destilada	7,47 ± 0,25[c]	6,7

Média ± desvio padrão de três repetições. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as soluções extratoras ($p<0,05$).

Molina (1989), Natividade (1992) e Modesti (2006) realizaram estudos cujo objetivo foi a obtenção de concentrados proteicos utilizando solução alcalina para extração das proteínas devido ao fato de a elevação no pH aumentar a recuperação proteica. A recuperação de proteínas através da solubilização/precipitação no ponto isoelétrico (PI) foi proposta por Hultin e Kelleher (1999). Assim, é a solubilidade das proteínas que proporciona esse processo. A solubilização das proteínas pressupõe a adição de um ácido ou de uma base à solução. Na solubilização ácida, o ácido dissocia-se fornecendo hidrônios (H_3O^+) à solução e as proteínas adquirem carga positiva devido à protonação dos aminoácidos básicos. Na

solubilização alcalina, a adição de uma base (OH^-) à solução provoca a desprotonação dos aminoácidos ácidos, tornando as proteínas negativamente carregadas. O aumento da carga positiva das proteínas faz intensificar as interações proteína-água, permitindo assim a sua solubilização e extração (Hultin et al., 2005).

Em outro estudo com concentrado proteico obtido de aguapé, Medeiros et al. (1999) verificou que a solução de NaOH 0,05 M foi a mais eficiente e a solução com maior rendimento na extração das proteínas, quando comparado à outras concentrações.

5.5 Determinação do ponto isoelétrico

A determinação do ponto isoelétrico (pI) está baseada na relação inversa da concentração proteica entre a porção solúvel e precipitada. Para um grande número de proteínas, o pI está entre o pH 3,5 e 6,5. Neste ponto, as proteínas precipitadas podem apresentar propriedades de geleificação melhoradas e maior qualidade da proteína. O pI bem como, o comportamento dos valores de pH depende da origem da proteína e, para melhor conhecimento, curvas de solubilidade proteica podem ser realizadas como testes preliminares (Gehring et al. 2011).

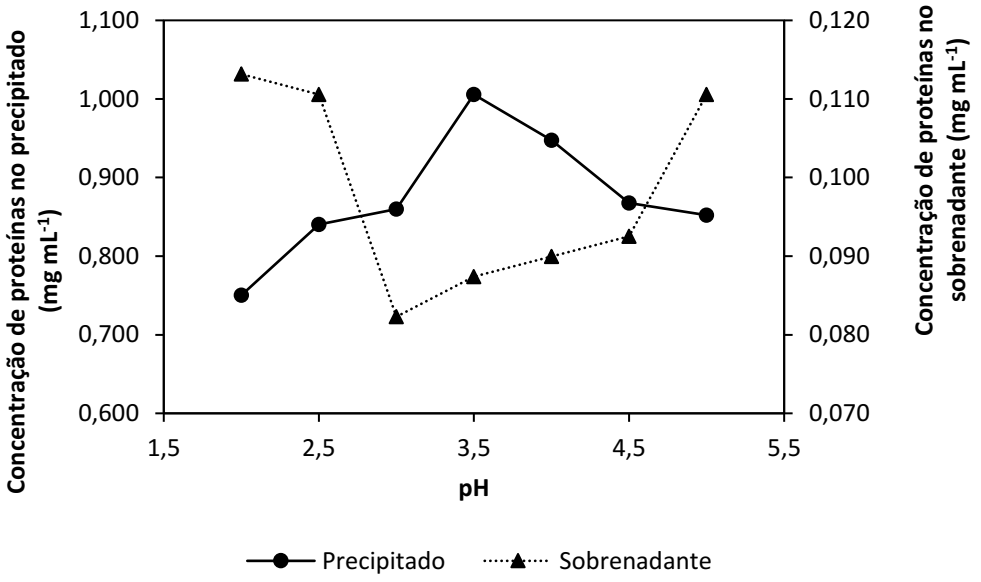
O ponto isoelétrico é influenciado pela presença de todos os aminoácidos constituintes das proteínas, ou seja, é função do pK dos seus grupos carboxílicos e amino terminais ionizáveis e das cadeias laterais desses aminoácidos constituintes (BECKER, 2007). A cevada, principal constituinte do RC, apresenta elevada quantidade de aminoácidos ácidos, ácido glutâmico (26,9%), ácido aspártico (6,8%), em relação aos aminoácidos totais (HELM, 2004). Esses aminoácidos são classificados como ácidos pois ficam carregados negativamente em pH acima de 3 (ponto isoelétrico) (BECKER, 2007).

Bilgi e Çelik (2004) estudaram o ponto isoelétrico de proteínas da cevada e relataram o pI no pH 4,9. Entretanto, diferentes comportamentos de solubilidade em função do pH podem ser observados para misturas de proteínas, tais como concentrados proteicos, caseinatos, ou em sistemas alimentícios (ORDÓÑEZ, 2005; VOJDANI, 1996).

Estudos com diferentes matérias-primas vêm sendo realizados a fim de determinar o ponto isoelétrico das proteínas nesses materiais. Timilsena et al. (2016) em seu estudo com isolado proteico de semente de chia, encontraram o ponto isoelétrico desse grão no pH 3. O ponto isoelétrico das proteínas do arroz foi determinado em pH 4,5 (NOLSØE; UNDELAND, 2009).

Na Figura 4, a menor concentração proteica observada no sobrenadante é entre o pH 3 e 3,5, e a maior concentração no precipitado é no pH 3,5, indicando o ponto isoelétrico das proteínas obtidas de RC úmido.

Figura 4. Determinação do ponto isoelétrico em função da solubilidade das proteínas



5.6 Estudo das propriedades do extrato proteico

No Quadro 1 estão apresentados os resultados obtidos no estudo das propriedades do extrato proteico com relação a Solubilidade, Capacidade de Formação de Espuma (CFE), Digestibilidade, Atividade Emulsionante (AE) e Estabilidade da Emulsão (EE).

Quadro 1. Propriedades estudadas das proteínas do extrato proteico.

Solubilidade		**Capacidade de formação de espuma (CFE)**	
pH	**Solubilidade (%)**	**Tempo (min)**	**CFE (%)**
3	2,1	0	0,3
5	3,9	5	0,3
7	38,1	10	0
9	48,9	15	0
11	87,5		
Poder emulsionante		**Digestibilidade**	
AE (%)	**EE (%)**	99,8%	
54,4	50,0		

Com relação a solubilidade das proteínas presentes no extrato, foi observado no pH 3 menor solubilidade seguido do pH 5 ou seja, no pH ácido. Isso pode ser explicado, porque esses valores de pH aproximam-se do ponto isoelétrico das proteínas estudas (3,5). No ponto isoelétrico, o número de cargas positivas é igual ao número de cargas negativas

resultando no aumento do número de interações proteína-proteína e consequente redução da solubilidade (ROSSI; GERMONDARI, 1982).

A maior solubilidade foi encontrada em pH 11 (87,5%). Segundo Yada (2004), a solubilidade é aumentada em pH distante do ponto isoelétrico devido a elevação da repulsão eletrostática entre as moléculas de proteína e hidratação dos resíduos carregados. Além do pH, a solubilidade das proteínas também depende de tratamentos prévios sofridos pela matéria-prima e do método de extração (MWASARU et al, 2000).

A temperatura também é outro fator que influencia na solubilidade. Temperaturas entre 0 e 50 °C são capazes de aumentar a solubilidade, porém, quando exposta ao calor por um período prolongado, a proteína tende a ser desnaturada devido à exposição dos grupos sulfidrilas (SH^-), inicialmente no interior das moléculas de proteínas (SOOD; SIDHU; DEWAN, 1976). Segundo Vodjani (1996), a desnaturação proteica faz com que a solubilidade diminua, pois há um aumento nos grupos hidrófobos/hidrofóbicos em sua superfície e o desdobramento provocado pela desnaturação, altera o equilíbrio proteína-proteína e proteína-solvente.

As principais interações que influenciam nas características de solubilidade das proteínas são as de natureza hidrofóbicas (proteína-proteína) e de natureza iônica (proteína-solvente que, aumentam a solubilidade). A adição de sal promove precipitação das proteínas devido à redução da solubilidade decorrente de um efeito "*salting out*" (hidrofóbico) ou da combinação de um efeito eletrostático – "*salting in*" com o efeito "*salting out*". O efeito "*salting in"* faz com que a solubilidade aumente com o aumento da concentração de sal. Já no efeito "*salting out"*, a solubilidade diminui com o aumento da concentração do sal. A redução na solubilidade com esse efeito é explicada porque os íons do sal competem com a proteína pelas moléculas de água e assim, a camada de hidratação é parcialmente removida e as interações proteína-proteína se tornam relevantes, principalmente as interações hidrofóbicas. Além disso, há o aumento da tensão superficial do líquido devido à adição de sal, que aumenta a energia livre necessária para formação de uma cavidade no solvente na qual, a molécula de proteína estaria dissolvida. (MARZZOCO; TORRES, 1999) As condições de processamento, tais como: pH da extração, precipitação e neutralização influenciam na solubilidade proteica (TOMMASO; RIBEIRO, 2017).

Em estudo de Silva et al. (2012) sobre propriedades funcionais do isolado proteico de farelo de arroz, os autores encontraram solubilidade em pH 3 de aproximadamente 50% diminuindo drasticamente em pH 5 (pH próximo do ponto isoelétrico das proteínas dessa matéria prima) para aproximadamente 30%. Nesse estudo, a solubilidade assemelha-se a solubilidade das proteínas do RC, pois à medida que se aumenta o pH, o percentual de solubilidade também aumenta, atingindo o maior percentual no pH 11 (aproximadamente 70%) para o farelo de arroz. Em estudo de obtenção de concentrado proteico de farelo de

arroz, Bernardi (2015) encontrou menor solubilidade em pH 2, 3, 4 e 5, e maior solubilidade na faixa de pH 6 a 10.

A baixa CFE segundo Belitz e Grosch (2009) pode ser atribuída a presença de lipídios que podem reduzir a formação e a estabilidade de espuma nos alimentos devido a alteração da expansão da proteína à interface e enfraquecimento ou rompimento das forças coesivas entre a camada de proteína em torno dos glóbulos de ar resultando, na diminuição da espuma.

As propriedades de espuma são influenciadas pela fonte de proteína, métodos e parâmetros térmicos de processamento como: método de isolamento da proteína, temperatura, pH, concentração da proteína, tempo de mistura e método utilizado para formação de espuma (TOMMASO; RIBEIRO, 2017).

Yasumatsu et al. (1972) também verificaram relação negativa entre as propriedades espumantes e o conteúdo de gordura. Os mesmos autores também reportaram que se produz alta expansão de espuma com alta dispersibilidade de proteína e nitrogênio.

A capacidade de formação e expansão de espuma exigem proteínas de cadeias flexíveis, pobres em estruturas secundárias e terciárias que se adaptam rapidamente na interface ar-líquido. Além disso, é preciso que estas proteínas tenham, na sua superfície, a possibilidade de formar ligações hidrofóbicas. No caso de estabilidade de espuma, é necessário sobretudo, que se formem películas coesivas, elásticas, contínuas e impermeáveis ao ar (CHESTEL; CUQ; LORIENT, 1989). Pimentel e Rezende (2015) em seu estudo sobre propriedades funcionais do isolado proteico de soja encontram 39,2% para essa propriedade. Silva et al (2012) encontraram valores elevados para capacidade de formação de espuma para isolado proteico de farelo de arroz (62%).

O estudo das propriedades emulsificantes da proteína pode ser definida como a habilidade da proteína para participar na formação da emulsão e a capacidade de estabilizar a nova emulsão criada. A AE depende da formação de filmes de adsorção ao redor dos glóbulos e da redução da tensão superficial na interface óleo-água. A EE é a medida da capacidade das gotas de emulsão em se manter dispersas sem separação pela coalescência, cremosidade e floculação (TOMMASO; RIBEIRO, 2017). A AE do extrato proteico do RC foi de 54,4% e a EE foi de 50% quando submetido à aquecimento a 80 °C. Em um estudo com concentrados proteicos de soja, foram encontrados AE de 33,2% e EE de 71,4% (PIMENTEL; REZENDO, 2015)

De acordo com Lestari et al. (2011), a atividade emulsionante está relacionada com a taxa de desdobramento das proteínas nas interfaces óleo/água, ou seja, essa propriedade está diretamente ligada ao conteúdo proteico adsorvido. Proteínas, normalmente possuem propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas. Segundo Tommaso e Ribeiro (2017), a AE depende da forma das moléculas da proteína, carga e hidrofobicidade das suas moléculas,

neutralidade dos dipolos e hidratação dos grupos polares. A EE depende da magnitude dessas interações.

A partir do resultado obtido, é possível dizer que o extrato obtido é uma boa alternativa para ser utilizado na elaboração de produtos alimentícios emulsionados. A atividade emulsionante é uma importante propriedade das proteínas em alimentos emulsionados, tais como queijos, sorvetes, molhos para saladas e carnes processadas (PAGNO et al., 2009).

Propriedades emulsificantes de proteínas de origem animal e vegetal foram melhoradas pela correlação hidrofobicidade superficial e tensão superficial. Proteínas com um grande número de aminoácidos apolares apresentam elevada hidrofobicidade e são ativas superficialmente. Existe uma forte correlação entre a AE e hidrofobicidade de proteínas (TOMMASO; RIBEIRO, 2017).

A digestibilidade pode ser definida como sendo a hidrólise das proteínas pelas enzimas digestivas até aminoácidos e a absorção dos mesmos pelo organismo, que estariam biologicamente disponíveis, desde que não houvesse interferência na absorção dos mesmos pelo organismo (TOMMASO; RIBEIRO, 2017). A digestibilidade da proteína assume um papel muito importante na avaliação nutricional de produtos para alimentação. Embora o conteúdo dos aminoácidos essenciais seja um indicador primário da qualidade nutricional, a verdadeira qualidade também depende do nível de utilização desses aminoácidos nos organismos (DAMODARAN, PARKIN e FENNEMA, 2010).

A separação das proteínas dos demais componentes do RC facilita a ação das enzimas digestivas, aumentando a sua digestibilidade, onde obteve-se um valor de digestibilidade igual a 99,8%. Os dados de digestibilidade proteica nos trazem a comprovação da eficiência das proteínas obtidas pelo método de variação do pH, obtendo proteínas funcionais e nutricionais de melhor qualidade.

Os concentrados e extratos proteicos têm apresentado uma ótima funcionalidade para aplicação em diferentes alimentos (Gehring et al., 2011) e têm apresentado a quantidade suficiente de todos aminoácidos essenciais para cobrir a alimentação humana (CHEN e JACZYNSKI, 2007; MARMON e UNDELAND, 2010).

5.7 Aplicação do extrato proteico em produtos na indústria de alimentos

As propriedades funcionais das proteínas presentes no extrato proteico obtido a partir do RC apresentam elevado potencial de aplicação na indústria de alimentos, contribuindo para qualidade nutricional de diversos produtos. A tendência de saudabilidade exige que produtos tradicionais venham a ser reformulados e enriquecidos para atender as demandas de consumo (RAMOS, et al., 2016).

O extrato proteico do RC por apresentar elevada digestibilidade, baixa CFE e elevada AE pode ser aplicado em produtos que necessitem de proteínas com tais propriedades funcionais como iogurtes, molhos e sorvetes. (SOUZA, et al., 2010)

Sorvetes são alimentos que incluem ingredientes de grande valor nutricional assim, a adição de novos ingredientes torna-o ainda mais atrativo e contribuem para aumento de sua funcionalidade. Dentro da classificação da Legislação Brasileira (ANVISA), portaria n° 379 de 26 de abril de 1999, encontram-se os *Sorbets* - produto elaborado basicamente com polpa de fruta, sucos ou pedaços de frutas e açúcares (BRASIL, 2005) Os sorvetes do tipo *sorbets* o chamado *Frozen Yogurt*, são produtos com tendências funcionais e de saudabilidade nos quais o extrato proteico poderia ser adicionado de modo a enriquecer o valor nutricional dos mesmos.

Em estudo de Campos et al (2009) na elaboração de molho cremoso à base de extrato de soja, que apresenta AE e EE semelhante ao extrato proteico de RC, os autores observaram que a EE foi influenciada pela relação extrato:óleo, sendo que as amostras com maior teor de óleo apresentaram menor estabilidade. Assim, há possibilidade de aplicação do extrato de soja no desenvolvimento de molhos cremosos já que, a intenção de compra do molho cremoso com adição de extrato, obteve média de 5 pontos em escala estruturada de 7 pontos (definitivamente compraria a definitivamente não compraria). Deste modo, o extrato proteico de RC também deve ser visto com potencial de aplicação nesses produtos.

Por seu elevado teor de proteína (51,7%), com propriedades funcionais caracterizadas pela elevada solubilidade, AE e EE, digestibilidade e baixa CFE, a proteína do RC, pode ser indicada como proteína complementar na dieta podendo ser amplamente aplicada em iogurtes que necessitam de proteínas com tais propriedades funcionais assim como as proteínas de extrato da soja que, conferem propriedades emulsificantes de valor característico. (FERNANDES et al., 2010, SOUSA et al., 2011; GUIMARÃES et al., 2012).

O emprego do extrato proteico de RC em emulsionados cárneos como em salsichas por exemplo, proporcionam o aumento do valor nutricional desse produto e estudos podem ser realizados visando substituição parcial de ingredientes pelo extrato proteico de RC como em estudo conduzido por Kubota et al (2012) com substituição de gordura – toucinho por isolado proteico de soja. Com isso, é possível reduzir o conteúdo de gordura do produto e aumentar o de proteínas sem prejudicar a emulsão e sua estabilidade.

Em embutidos como mortadelas, o extrato proteico de RC pode ser estudado como um substituto da proteína de soja, pois as propriedades proteicas são semelhantes e tanto as proteínas da soja quanto as proteínas do extrato do RC são capazes de formar e estabilizar emulsões.

Além disso, a aceitação sensorial por parte dos consumidores em relação ao RC foi testada no estudo de Ferreira (2017) para elaboração de biscoito integral empregando

resíduo da indústria cervejeira na formulação, as 4 formulações estudadas foram aceitas. Nesse contexto, o extrato proteico obtido a partir do RC também pode ser acrescido em biscoitos, já que o consumidor vem buscando melhor qualidade de vida e concomitantemente, as indústrias de alimentos buscam melhorar seus processos e gerar menor impacto ambiental.

5.8 Avaliação da capacidade de remoção da AFB1 pelo adsorvente

A Tabela 5 mostra os percentuais de remoção da micotoxina pelas fibras adsorventes.

Tabela 5. Percentual de Aflatoxina B1 removida pelo adsorvente

Concentração (ng mL^{-1})	AFB1 adsorvida (%)
0,5	97,9
1,0	98,0

Pode-se observar que as fibras remanescentes após a extração de proteínas indicam um excelente adsorvente de micotoxinas, visto que foi adsorvido aproximadamente 98% da Aflatoxina B1 em ambas as concentrações utilizadas. Os adsorventes de origem vegetal são constituídos principalmente por macromoléculas, como substâncias húmicas e fibrosas. Essas estruturas geralmente possuem grupos químicos como carboxilas, carbonilas, hidroxilas e amino, que possuem propriedades adsortivas. Eles são capazes de adsorver contaminantes por meio da troca iônica ou por outros processos de interação (SCAGLIONI, BADIALE-FURLONG, 2016).

Em um estudo utilizando cascas de arroz como adsorvente de aflatoxinas em leite, Scaglioni e Badiale-Furlong (2016) encontraram quantidade média de micotoxinas adsorvidas de 0,0150 µg g^{-1} para AFLA B1 e 0,0174 µg g^{-1} para AFLA M1, indicando ser um promissor adsorvente. Cardoso (2017) estudou as fibras de coco como adsorventes do agrotóxico parationa metílica e encontrou 86,1% de redução do mesmo pelo adsorvente.

A Tabela 6 mostra o percentual de recuperação da micotoxina pela técnica de dispersão de matriz em fase sólida.

Tabela 6. Percentual de AFLA B1 recuperada pelo adsorvente

Concentração (ng mL^{-1})	Recuperação da AFB1 (%)
0,5	220
1,0	85

O emprego da técnica MSPD após o teste de adsorção da AFB1 teve como objetivo a quantificação de AFB1 no RF. A partir dos resultados obtidos, nota-se que é necessário a

otimização do método MSDP para esse tipo de adsorvente, visto que o percentual de recuperação na concentração de 0,5 ng mL^{-1} foi de 220%, indicando que houve efeito matriz na análise. O método utilizado para essa análise ocorreu de acordo com Massarolo et al. (2018), onde em seu estudo foi utilizado milho para a técnica de MSPD. O presente estudo realizou o ensaio nas mesmas condições, e isso pode ser a causa do efeito matriz em questão. O efeito matriz corresponde a interferência dos componentes da matriz no resultado analítico, seja este positivo, causando o aumento do sinal, ou negativo, causando a supressão do sinal (NIESSEN et al., 2006).

Massarolo et al. (2018) encontraram um percentual de recuperação de aflatoxina B1 em 86,7%, utilizando a técnica MSPD em farinhas de milho. WU et al. (2008) aplicaram MSPD para determinação de micotoxinas em amostras de maçã e suco de maçã. Os valores de recuperação variaram de 89,8-103,3% para suco de maçã e 85,3-97,9% para maçã. Carvalho et al. (2012) estudaram o emprego da casca de arroz para extração de aflatoxinas em cebolas por MSPD e encontraram valores de recuperação para AFB1 de 88,3-93,0%.

Avaliando o percentual de remoção da micotoxina pelas fibras obtidas do RC, há a necessidade de maiores estudos a fim de entender e otimizar o processo de adsorção pelas mesmas. Com isso, pode-se indicar futuramente a possível reutilização das fibras no processo cervejeiro, para a redução da quantidade de micotoxinas presentes no produto final.

6.CONCLUSÃO

Foi definida a melhor condição de extração das proteínas do resíduo cervejeiro e melhor solução extratora – resíduo cervejeiro úmido e solução alcalina de NaOH 0,05 M, respectivamente e obtenção de extrato proteico à partir do RC com teor proteico de 51,7%. As propriedades funcionais das proteínas extraídas a partir do RC foram estudadas e apresentaram resultados promissores que possibilitam a aplicação do mesmo na indústria de alimentos. Destacou-se a elevada digestibilidade – 99,8% e a maior solubilidade em pH 11 – 87,5%. Apesar da baixa CFE (0,3%), A AE e EE apresentaram valores elevados de 54,4% e 50%, respectivamente. Assim, observou-se o potencial de aplicação desse extrato em diversos produtos alimentícios como iogurtes, molhos, sorvetes, emulsionados cárneos e embutidos.

As fibras remanescentes após a extração das proteínas se mostraram um promissor adsorvente de micotoxinas, visto que aproximadamente 98% da AFB1 foi adsorvida. Faz-se necessário estudos posteriores para otimização do método de adsorção, para futura reutilização do adsorvente na indústria cervejeira.

SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolvimento de produtos alimentícios com adição de extrato proteico obtido a partir do RC;
- Realizar análises físico-químicas e microbiológicas no RC para aplicação em produtos alimentícios de forma a estabelecer padrões para aplicação;
- Realizar análise sensorial testando diferentes formulações – variando a concentração do RC para determinar a de maior aceitação e intenção de compra;
- Estudos que visem a otimização do método de adsorção pelo resíduo fibroso;
- Estudos da capacidade da aplicação do adsorvente na indústria cervejeira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Norma Brasileira, no. 10004**, Classificação de Resíduos Sólidos, NBR 10004.

ALEXANDRE, H.V.; SILVA, F.L.H. da.; GOMES, J.P.; SILVA, O.S. da.; CARVALHO, J.P.D.; LIMA, E.E. de. Cinética de Secagem do Resíduo do Abacaxi Enriquecido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.17, n.6, p.640-646, 2013.

AMORIM, F. V. **Estudo do poder adsortivo do resíduo gerado na produção de cerveja utilizando sistema em leito diferencial.** Campina Grande, PB: UEPB, 2016.

ANFOSSI, L.; GIOVANNOLI, C.; BAGGIANI, C. **Mycotoxin detection. Current Opinion in Biotechnology**, v. 37, p. 120-126, 2016.

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

AQUILANI, B., LAURETI, T., POPONI, S.,SECONDI, L. (2015) Beer Choice and Consumption Determinants When Craft Beers Are Tasted: An Exploratory Study of Consumer Preferences. **Food Quality and Preference**, 41, 214-224.

ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. Perfil sensorial e composição físico-química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 121-128, 2003.

ARMANDO, M. R.; DOGI, C. A.; POLONI, V.; ROSA, C. A. R.; DALCERO, A. M.; CAVAGLIERI, L. R. In vitro study on the effect of *Saccharomyces cerevisae* strains on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium graminearum*. **International Journal of Food Microbiology.** v. 161, p. 182-188, 2013.

ASSUMPÇÃO, S. M. N.; PONTES, L. A. M.; CARVALHO, L. S.; CAMPOS, L. M. A.; ANDRADE, J. C. F.; SILVA, E. G. Pré-Tratamento Combinado H_2SO_4/H_2O_2/NaOH para Obtenção das Frações Lignocelulósicas do Bagaço da Cana-de-Açúcar. **Rev. Virtual QuÍmica,** v.8, n.3, p.803-822, 2016.

ATHIÉ, I.; CASTRO, M. F. P. M.; GOMES, R. A. R.; VALENTINI, S. R. T. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 236p., 1998.

BAUER, J. I.; GROSS, M.; GOTTSCHALK, C.; USLEBER, E. Investigations on the occurrence of mycotoxins in beer. **Food Control,** v. 63, p. 135-139, 2016.

BECKER, E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 2, p. 207–210, 2007.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2. Ed. Zaragoza (Espanha): Editora Acribia, S.A., 2009.

BENNET, J.W. & KLICH, M. **Mycotoxins. Clinical of Microbiology** Review 16: 497–516. 2003.

BERNARDI, Silvia. **Obtenção de concentrado proteico do farelo de arroz e avaliação das propriedades químicas e funcionais.** 2015. 100 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.

BERTUZZI, T.; RASTELLI, S.; MULAZZI, A.; DONADINI, G.; PIETRI, A. Mycotoxins occurrence in beer produced in several European countries. **Food Control**, v. 22, p. 2059-2064, 2011.

BILGI, B.; CELIK, S. Solubility and emulsifying properties of barley protein concentrate. **Euro Food Research Technology**, v.218, pg.437-441, 2004.

BLEIER, B.; CALLAHAN, A.; FARMER,S.; MIN,H. Craft Beer Production. **University of Pennsylvania**. Filadélfia: editor, 2013. p. 565

BOONLA, O.; KUKONGVIRIYAPAN, U.; PAKDEECHOTE, P.; KUKONGVIRIYAPAN, V.; PANNANGPETCH, P.; THAWORNCHINSOMBUT, S. Peptides-derived from thai rice bran improves endothelial function in 2K-1C renovascular hypertensive rats. **Nutrients**, v. 7, p. 5783–5799, 2015.

BORGES, M. S.; NETO, S. P. Meio ambiente x Indústria de cerveja: um estudo de caso sobre práticas ambientais responsáveis. In: **Congresso Nacional de Excelência em Gestão**. 2009, Niterói. Anais. Niterói: UFF, 2009.

BRASIL, 2013. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária** (EMBRAPA). Disponível em:< http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cevada/arvore/CONT000fyt381uk02wx5ok0vcihk68tas55r.html>. Acesso em: 20 de abril de 2018.

BRASIL, 2014**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária** (EMBRAPA). Cevada BR-2. Embrapa portal de pesquisa agropecuária. Disponível em:< http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do150_3.htm> Acesso em: 20 de abril de 2018.

BRASIL. Decreto n. 6871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispões sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União.** Brasília, D.F, 5 de junho de 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n. 266, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 set. 2005. Seção 1.

BRASIL. Resolução RDC Nº 262, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para produtos proteicos de origem vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 setembro de 2005.

BRAZ, J.M. **Bagaço de cevada na dieta de suínos em fase de crescimento.** Seropédica. UFRRJ, 2008.

BROCHIER, M.A CARVALHO, S. Aspectos ambientais, produtivos e econômicos do aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros em sistema de confinamento**. Revista Ciência e Agrotecnologia**, v.33 n.5, 2009.

BROCHIER, M.A. **Aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros confinados em fase de terminação**. 2007. Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2007.

CABRAL FILHO, S.L.S. **Avaliação do resíduo de cervejaria em dietas de ruminantes através de técnicas nucleares e correlatas.** Piracicaba, SP: USP, 1999. 82p. Dissertação de Mestrado em Ciência - Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

CARDOSO, J. M. **Avaliação da fibra de coco (mesocarpo do fruto de *Cocos nucifera* L.) como adsorvente para remoção do agrotóxico parationa metílica de meio aquoso.** Catalão, GO: UFG, 2017, 97p. Dissertação Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Goiás.

CARVALHO, A. P. M. G.; HACKBART H. C. S.; SOUZA M.M.; FURLONG, E. B. Emprego de casca de arroz como adsorvente para execução de técnica de MSPD para determinar aflatoxinas em cebolas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 2012; 71(4):630-7.

CARVALHO, G.G.P.; PIRES, A.J.V.; SILVA, F.F. et al. Comportamento ingestivo de cabras leiteiras alimentadas com farelo de cacau ou torta de dendê. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.9, p.919-925, 2004.

CERVBRASIL - Associação Brasileira da Indústria da Cerveja. Anuário, 2016. Disponível em:<http://www.cervbrasil.org.br/arquivos/anuario2016/161130_CervBrasilAnuario2016_WEB.pdf>. Acesso: 03 de maio de 2018.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989. 346p

CHEN, Y.C.; JACZYNSKI, J. Protein recovery from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) processing byproducts via isoelectric solubilization/precipitation and its gelation properties as affected by functional additives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2007.

CLARK, J.H.; MURPHY, M.R.; CROOKER, B.A. **Supplying the proteinneed soft dairy cattle from by products feeds.** Journal of Dairy Science, v.70, n 5, p. 1092-1109, 1987.

COSTA, J.M.B.; MATTOS, W.R.S.; BIONDI, P. et al. Degradabilidade ruminal do resíduo Úmido de cervejaria. **Boletim Indústria Animal**, v.52, n.1, p.87-94, 1995.

CRUZ, G. A. D. R.; OLIVEIRA, M. G. A.; COSTA, N. M. B.; PIRES, C. V.; CRUZ, R. S.; MOREIRA, M. A. Nova metodologia de determinação da digestibilidade proteica in vitro de cultivares de feijão (Phaseolus vulgaris L.). **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p.57-63, 2005.

DALLAGO, R. M.; SMANIOTTO; OLIVEIRA, L. C. Resíduos de curtumes como adsorventes para remoção de corantes em meio aquoso. **Química nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 432-437.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema.** 4. ed. São Paulo: editora Artmed, 2010.

DEVRIES, J.W. On defining dietary fibre. **Proceedings of the Nutrition Society.** v. 46, n. 3, p.112-29, 2003.

DIAS, A. C. B.; PAVAN, M. A.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D. C. Plant residues: short term effect on sulphate, borate, zinc and copper adsorption by an acid oxisol. **Brazilian Archives of Biology and Technolog**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 199-202.

DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J. B. Cerveja. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia.** São Paulo: Edgard Blücher, 2010. cap. 2, p. 15-50.

FERNANDES, D. C.; FREITAS, J. B.; CZEDER, L. P.; NAVES, M. M. V. Nutritional composition and protein value of the baru (Dipteryxalata Vog.) **Journal of the Science of Food and Agriculture,** Oxford, v. 90, n. 10, p. 1650-1655, 2010.

FERREIRA, M.S.B. **Elaboração de biscoito integral empregando resíduo da indústria cervejeira na formulação.** [Trabalho de Conclusão de Curso] Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, SC, Brasil.
Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/182765/-%20TCC%20Marina%20Silva%20Barcelos%20Ferreira%20-%20.pdf?sequence=2> Acesso: 12 de novembro de 2018.

FIGUEIREDO, S. A.; BOAVENTURA, R. A.; LOUREIRO, J. M. Color removal with natural adsorbents: modeling, simulation and experimental. **Separation and Purification Technology,** v.20, p.129-141, 2000.

FISCHER, C. Cervejaria BRAHMA, unidade de Santa Catarina, 1996. Comunicação pessoal- citado *In*: BROCHIER, M.A; CARVALHO, S. Aspectos ambientais, produtivos e econômicos do aproveitamento de resíduo úmido de cervejaria na alimentação de cordeiros em sistemas de confinamento**. Ciência e Agrotecnologia**, v.33 n. p5, p.1392-1399, 2009.

FOLETO, L. E. Aplicabilidade das cinzas da casca de arroz. **Química Nova,** v. 28, nº 6, p. 1190-1998, 2005.

FONTANA, A.; CENTENARO, G. S.; PALEZI, S. C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Obtenção e Avaliação de Concentrados Proteicos de Corvina (Micropogonias furnieri) Processados por Extração Química. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2299–2303, 2009.

GEHRING, C.K.; GIGLIOTTII, J.C.; MORITZ, J. S.; TOU, J.C.; JACZYNSKI, J. Functional and nutritional characteristics of proteins and lipids recovered by isoelectric processing of fish by products and low-value fish: A review. **Food Chemistry** 124: 422–431, 2011.

GERON, L.J.V.; ZEOULA, L.M.; ERKEL, J.A. et al. Coeficiente de digestibilidade e características ruminais de bovinos alimentados com rações contendo resíduo de cervejaria fermentado**. Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.9, p.1685-1695, 2008.

GERON, L.J.V.; ZEOULA, LM.; BRANCO, A.F. et al**.** Caracterização, fracionamento protéico, degradabilidade ruminal e digestibilidade *in vitro* da matéria seca e proteína bruta do resíduo de cervejaria úmido e fermentado. **Acta Scientiarum Animal Science,** v.29, n.3, p.291-299, 2007.

GLÓRIA, M. M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado proteico de torta de Castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, 2000.

GONÇALVES, K. D. M. **Ocorrência de aflatoxinas B1 e M1 em leite em pó e UAT, consumido em Cabo Verde e região sul do Brasil.** Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica Ambiental), Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2018.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of sérum proteins by means of the biureto reaction. **Jornal of Biological Chemistry,** v. 177, p. 751-766, 1949.

GUIMARÃES, R. C. A.; FAVARO, S. P.; VIANA, A. C. A.; BRAGA NETO, J. A.; NEVES, V. A.; HONER, M. R.. Study of the proteins in the defatted flour and protein concentrate of baru nuts (Dipteryxalata Vog). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 464-470, 2012.

HELM, C. V. **Caracterização da composição química, proteinas de reserva e perfil de aminoácidos de variedades brasileiras de cevada nua**, Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, 2004.

HILL, R.A, Lacey, J. Factors determining the microflora of stored barley grain. **Annals of Applied Biology,** 1983.; 102: 467-83

HUA, Y.; HUANG, Y.; QIU, A.; LIU, X. Properties of soy protein isolate prepared from aqueous alcohol washed soy flakes. **Food Research International.** v. 38, p. 273-279, 2005.

HUIGE, N.J.. Brewery by-products and effluents. In: HARDWICK, W.A. (ed.).

HULTIN, H. O.; KELLEHER, S. D. Process for isolating a protein composition from a muscle source and protein composition. Rockport, Mass.: **Advanced Protein Technologies.** U.S. patent 6,005,073, 1999.

HULTIN, H. O.; KRISTINSSON, H. G.; LANIER, T. C.; PARK, J. W. (2005). **Process for recovery of functional proteins by pH shifts.** In: Surimi and Surimi Seafood, Park, J. W. (Ed), CRC.Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, USA, 107-140.

JERACI, J. L.; VAN SOEST, P. J. Improved methods for analysis and biological characterization of fiber. **Adv. Exp. Med. Biol.** New York. v. 270. p. 245-263, 1990.

KANAUCHI, O.; MITSUYAMA, K.; ARAKI, Y. Development of a functional germinated barley foodstuff from brewers' spent grain for the treatment of ulcerative colitis. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**. v.59, p. 59–62, 2001.

KUBOTA,E.H.; PALEZI,S.C.; SILVA, G.P.R; de SOUZA MARAN, M.H.S.; ZENI,M.P.; de CAR, E.M. Embutido Emulsionado com Adição de Isolado Proteico à Base de Pescado (*Micropogonias Furnieri*) **Unoesc e Ciência – ACET**, Joaçaba, v.3, n.2, p. 179-186, jul/dez 2012.

LACERDA, F. V.; PACHECO, M. T. T. **A ação das fibras alimentares na prevenção da constipação intestinal**. X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação (Anais do evento). João Pessoa (PB), 2006.

LANDRY, J. Comparison of extraction methods for evaluating zein content of maize grain. **Cereal Chem. St. Paul**, v. 74, n. 2, p. 188-189, mar./apr. 1997.

LEE, S.C.; PROSKY, L. International survey on dietary fiber: definition, analysis and reference materials. **Journal of Analytical Chemists International**, Washington, v.78, n.1, p. 22-36. 1995.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

LESTARI, D.; MULDER, W.; SANDERS, J. P. M.; Jatropha seed protein functional properties for technical applications, **Biochemical Engineering**, vol. 53 297-304, 2011.

LIMA, M. L. M. **Analise comparativa da efetividade da fibra de volumosos e subprodutos.** 2003. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

LOWELL, E.M. Post-harvest physiological change in forage plants. In: MOORE, K.J.; KRAL, D.M.; VINEY, M.K. (Eds.). Post-harvest physiology and preservation of forages. **American Society of Agronomy Inc.**, Madison, Wisconsin. 1995.

MARCINKOUSKI, E.A. **Estudo da cinética de secagem, curvas de sorção e predição de propriedades termodinâmicas da proteína texturizada de soja.** Dissertação de mestrado. Porto Alegre: UFRGS, 2006.

MARCUSSO, Eduardo Fernandes. **As Microcervejarias no Brasil Atual: Sustentabilidade e Territorialidade.** Dissertação (Mestrado) Programa de PósGraduação em Sustentabilidade na Gestão Ambiental, Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2015.

MARIMÓN, K.; GARCIA, S. O.; FELTRIN, A.; REMEDI, R.; CERQUEIRA, M.; BADIALE-FURLONG, E.; BUFFON, J. G. Aflatoxin biotransformation by commercial peroxidase. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology.** DOI:10.1002/jctb.5865, 2018.

MARMON, S.K.; UNDELAND, I. Protein isolation from gutted herring (Clupea harengus) using pH-Shift processes. **Journal of Agricultural Food Chemistry.** Vol. 58, p. 10480-10486, 2010.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica Básica.** 3. ed. Rio de Janeiro: Koogan, 2007.

MARZZOCO, A.; TORRES,B.B. **Bioquímica Básica**, 2. ed. Rio de Janeiro: Koogan, 1999.

MASSAROLO, K. C.; FERREIRA, C. F. J.; KUPSKI, L.; BADIALE-FURLONG, E. Optimization of Matrix Solid-Phase Dispersion Method for Extraction of Aflatoxins from Cornmeal. **Food Analytical Methods**. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12161-018-1311-1. Acesso em: 05 de novembro de 2018.

MASTROENI, M; GERN REGINA.M.M **– Bioquímica Práticas adaptadas**. São Paulo, Ed Atheneu, 2008.

MEDEIROS, R. M. L.; SABAA SRUR, A. U. O.; ROQUETTE PINTO, C. L. Estudo da biomassa de aguapé, para a produção do seu concentrado protéico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol.19, n.2 Campinas, 1999.

MENDES, F. Q.; OLIVEIRA, M.G.A.; CARDOSO, L.R.; COSTA, N.M.B.; SANT'ANA, R.C.O. Digestibilidade Proteica e Caracterização Bromatológica de Linhagens de Soja com Ausência ou Presença do Inibidor de Tripsina Kunitz e Isozimas Lipoxigenases. **Biosci. J.,** Uberlândia, v. 23, n 1, p. 14-21. Jan- Mar. 2007.

MILLER, R.; GRONINGER, H. S. Functional properties of enzyme-modified acylated fish protein derivatives. **Journal of Food Science**, v. 41, n. 2, p. 268–272, mar. 1976.

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

MORADO, R. Larousse da cerveja. São Paulo: **Larousse do Brasil**, 2009. p. 357.

MORAES, K. S. **Recuperação e utilização de proteína de carne de frango por processo de mudança de pH.** 2009. 126p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEIN, J. E.; VAN BUREN, J. P.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardised food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v.50, n.6, p.1715-1718, 1985.

MURATE, E. H.; FERREIRA, S. H. P. Propriedades Funcionais de Concentrado Protéico Extrusado de Sementes de Girassol. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.42, n.2, 1999.

MWASARU M.A.; MUHAMMAD K.; BAKAR J.; MAN Y.B.C. Influence of altered solvent environment on the functionality of pigeonpea (Cajanus cajan) and cowpea (Vigna unguiculata) protein isolates. **Food Chem.istry** 71:157–165, 2000.

NAIME, R.; GARCIA, A.C.A. **Percepção ambiental e diretrizes para compreender a questão do meio ambiente**. Novo Hamburgo: FEEVALE, 2004. 136p

NEUMANN, N. **Avaliação, composição, digestibilidade e aspectos metabólicos da fibra. In: Seminário apresentado na disciplina bioquímica do tecido animal (VET00036)** do programa de pós-graduação em ciências veterinárias da UFRGS. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 122 p.

NIESSEN, W. M. A.; MANINI, P.; ANDREOLI, R. Matrix effects in quantitative pesticide analysis using liquid chromatography–mass spectrometry. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 25, n. 6, p. 881-899, 2006.

NOLSØE, H.; UNDELAND, I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. **Food and Bioprocess Technology**, v. 2, p. 1–27, 2009.

OETTERER, M., REGITANO D'ARCE, M.A.B., SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Barueri, SP: Manole, 2006 p. 51-98.

OLIVEIRA, N.A.M. **Leveduras utilizadas no processo de fabricação da cerveja**. Minas Gerais. Programa de Pós Graduação, UFMG, 2011. 44 p.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed: [s.n.], 2005.

PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C.; FLORES, S. H.; JONG, E. V., Obtenção de concentrado proteico de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Revista Alimentos e Nutrição**, vol. 20, p 231-239, 2009.

PAGNUSSATT, F. A.; KUPSKI, L.; DARLEY, F. T.; FILODA, P. F.; DEL-PONTE, E. M.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Fusarium gramiearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from Spirulina sp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 32 (Supl. 1): 1-6, 2012.

PAPAZIAN, C**. The Homebrewer's Companion**. New York: Harper Collins Publishers Inc, 2014. 2 ed.

PASCARI, X.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S.; SANCHÍS, V. Mycotoxins and beer. Impact of beer production process on mycotoxin contamination. A review. **Food Research International.** v. 103, p. 121-129, 2018.

PASTRE, I. A.; PLICAS, L. M. A.; CUSTÓDIO, J. V.; AGOSTINHO, S. M. L. Reações ácido-base: conceito, representação e generalização a partir das energias envolvidas nas transformações. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2072–2075, 2012.

PEREIRA, V. L.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C. Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 36, p. 96-136, 2014.

PÉREZ-MARÍN, A. B.; ZAPATA, V. M.; ORTUÑO, J. F.; ARGUILAR, M.; SÁEZ, J.; LLORÉNS, M. Removal of cadmium from aqueous solutions by adsorption onto orange waste. **Journal of Hazardous Materials,** B139, p. 122 – 131, 2007.

PIACENTINI, K.C. **Fungos e Micotoxinas em Grãos de Cevada (Hordeum vulgare L.) Cervejeira, Descontaminação pelo Gás Ozônio e Segurança de Cervejas Artesanais.**

Dissertação. Florianópolis, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/158849/337259.pdf?sequence=1 > Acesso: 28 de abril de 2018.

PIMENTEL, F. C.; REZENDE, J. R. **Propriedades funcionais do isolado proteico de soja**. Congresso Estadual de Iniciação Científica. Goiânia: IF Goiás, 2015.

RAMOS, J.; AVERBUG, P.C.; SILVA,M.C.; NOGUEIRA, L.C. Comparação entre pastas de soja comercializadas no Rio de Janeiro e uma pasta de soja desenvolvida com maior teor de proteínas e menor teor de lipídeos. **XXV Congresso Brasileiro de Tecnologia de Alimentos** – CBCTA. Gramado, RS. Outubro 2016.

REED, P. B. **Nutrition and applied Science.** St. Paul: West Publishing, 1984, 747p.

REINOLD, M. R. **Manual Prático de Cervejaria**. 1.ed. São Paulo: Aden, 1997.

RIBEIRO, C.M. **Métodos para reduzir os níveis de micotoxinas na cevada destinada para fabricação da cerveja.** Porto Alegre, 2016 Disponível em: < http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/148500> Acesso: 30 de abril de 2018

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos.** [s.l.] Instituto Mauá de Tecnologia, 2007.

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

ROSA, G. C.; WALLAU, M. W.; NUNES, R. **Caracterização de cinzas da casca de arroz e seu uso como adsorvente de metais pesados.** XVII Encontro de Química da Região Sul, FURG, 2009.

ROSSI, M.; GERMODARI, I., Production of food-grade protein meal from defatted sunflower. II. Functinal properties evaluation. **Lebensm. Wiss. u. Technol***.,* v.15, 313-316, 1982.

RUSSEL, I. Yeast. In: HARDWICK, W.A. ed. **Handbook of Brewing.** New York: Marcel Dekker, cap.10, p.169-186, 1994.

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.

SARWAR, G. The protein digestibility-corrected amino acid score method overestimates quality of proteins containing antinutritional factors and of poorly digestible proteins

supplemented with aimiting amino acids in rats. **Journal of Nutrition, Bethesda**, v. 127, n.5, p. 758-764, may 1997.

SCAGLIONI, P. T; BADIALE-FURLONG, E. Rice husk as an adsorbent: A new analytical approach to determine aflatoxins in milk. **Talanta,** v. 152, p. 423-431, 2016.

SCHWENZFEIER, A.; LECH, F.; WIERENGA, P. A.; EPPINK, M. H. M.; GRUPPEN, H. Foam properties of algae soluble protein isolate: Effect of pH and ionic strength. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 111–117, 2013.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações.** São Paulo: Varela, 1996.

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

SILVA, P.M.; ROCHA, M.; RIOS, D.G.; VARGAS, M.M.; MELLADO, S.M. **Propriedades Funcionais de Isolados Proteicos de Farelo de Arroz.** Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação de Engenharia e Ciências de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, RS., 2012.

SILVEIRA, C. M.; FURLONG, E. B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 27, p. 805-811, 2007.

SOARES, N. **Tempo de mudança. Engarrafador Moderno**, São Caetano do Sul, n.205, p. 14-22, 2011.

SOOD, S.M. SIDHU, S.K.; DEWAN, R.K. **Voluminosity of bovine and buffalo casein micelles at different temperatures.** Milchwissenschaft, 31, 470-474, 1976.REED, P. B. **Nutrition and applied Science.** St. Paul: West Publishing, 1984, 747p.

SOUSA, A.G. O.; FERNANDES, D.C.; ALVES, A. M.; FREITAS, J.B.; NAVES M.M.V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**, v. 44, p. 827- 834, 2011.

SOUZA, J.C.B.; COSTA, M.R.; DE RENSIS, C.M.V.B.; SILVEIRA,K. Sorvete: composição, processamento e viabilidade de adição de probiótico. **Alimentos e Nutrição.** Araraquara. v.21, n1, p. 155- 165, jan/mar 2010.

SOUZA, S. S. P.; ALMEIDA, P. L. P.; SANTOS, M. F. S. **Gestão Ambiental: Um Estudo sobre o Gerenciamento dos Resíduos Sólidos de uma Indústria de Embalagens Flexíveis em Campina Grande – PB**, 2009.

TANG, S.; HETTIARACHCHY, N. S.; HORAX, R.; ESWARANANDAM, S. Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat-stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 1, p. 152–157, 2003.

THEANDER, O.; AMAN, P. Anatomical and chemical characteristics. In: SUNDSTOL, F.; OWEN, E. **Straw and Other Fibrous by-Products as Feed**. Amsterdam: Elsevier, 1984.

TIMILSENA, P. Y.; ADHIKARI, R; BARROW, C. J. Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate chia seed gum complex coacervates. International Journal of Biological Macromolecules, v.91, pg.347-357, 2016.

TOMMASO, G.; RIBEIRO, R. **Propriedades Funcionais das Proteínas.** Moodle USP E-disciplinas. Engenharia Bioquímica. São Paulo, 2017.

VENTURINI FILHO, W. G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**. 1. ed. São Paulo: Blücher, 2010.

VIEIRA, A.R.D.G. **Dreches de cervejaria relativamente à luzerna e à polpa de beterraba.** Dissertação (Mestrado em Engenharia zootécnica) Lisboa: Universidade técnica de Lisboa, 81p. 2009.

Vojdani, F. Solubility. In: Hall, G.M. **Methods of testing protein functionality**. London: Blackie Academic & Professional, 1996. cap.2, p.11-60.

WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURKS, W.; SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 2, p. 411–416, 1999.

WEST, J.W.; MARTIN, L.O.E.S.; Wet brewers grains for lactating dairy cows during hot, humid weather. **Journal of Dairy Science,** v.77, n1, p. 196-204, 1994.

WU, R. N.; DANG, Y. L.; NIU, L.; HU, H. Application of matrix solid-phase dispersion–HPLC method to determine patulin in apple and apple juice concentrate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 582–586, 2008.

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

YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 36, n. 5, p. 719-727, May 1972.